Die Entwicklung von *Isospora suis* Biester und Murray 1934 im Schwein

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
am Fachbereich Biologie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Franz-Rainer Matuschka
aus Heidelberg

Berlin 1980

Erster Gutachter: Professor Dr. Willi Knülle
Zweiter Gutachter: Professor Dr. Alfred Otto Heydorn

Tag der Prüfung: 28. Juli 1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

(Aus dem Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin und dem Institut für Allgemeine Zoologie der Freien Universität Berlin)

Die Entwicklung von *Isospora suis* Biester und Murray 1934 (Sporozoa : Coccidia : Eimeriidae) im Schwein*

Von Franz-Rainer Matuschka* und Alfred Otto Heydorn

(Mit 89 Abbildungen)

Eingegangen am 28. Juli 1980

Inhaltsverzeichnis

1.0 **Einleitung** ... 406

2.0 **Vergleichende Darstellung der Entwicklungsbiologie, Morphologie und Pathogenität der Kokzidien des Schweines, insbesondere der Eimeriidae** *(anhand der Literatur)* ... 408

2.1 Die Gattungen *Toxoplasma* und *Sarcocystis* ... 408

2.2 Die Gattung *Eimeria* ... 409

2.3 Die Art *Isospora suis* ... 410

2.4 Neuere Ergebnisse zur Entwicklung isosporider Kokzidien ... 411

3.0 **Material und Methoden** ... 412

3.1 Infektionsmaterial ... 412

3.2 Versuchstiere ... 412

3.3 Experimentelle Infektionen ... 413

3.4 Oozystengewinnung ... 413

3.5 Bestimmung der Schadwirkung ... 414

3.6 Exzystierung von Sporozoiten ... 414

3.7 Untersuchung auf extraintestinale Stadien ... 415

3.8 Lichtmikroskopie ... 415

3.9 Transmissionselektronenmikroskopie ... 415

3.9.1 Dünnschnittechnik ... 415

3.9.2 Gefrierätztechnik ... 416

3.10 Rasterelektronenmikroskopie ... 416

---

* Prof. Dr. Jürgen Brandenburg zum Gedenken.

* Diese Arbeit ist Teil einer vom Fachbereich Biologie der Freien Universität Berlin genehmigten Dissertationsschrift.

4.0 **Ergebnisse** ... 416
4.1 Infektionsverlauf, klinische Symptome und Pathologie ... 416
4.2 Die endogene Entwicklung von *I. suis* ... 417
4.2.1 24 Stunden p. i. ... 418
4.2.2 48 Stunden p. i. ... 418
4.2.3 72 Stunden p. i. ... 418
4.2.4 96 Stunden p. i. ... 419
4.2.5 120 Stunden p. i. ... 419
4.2.6 144 Stunden p. i. ... 419
4.2.7 168 Stunden p. i. ... 420
4.2.8 Beschreibung der Oozysten und Sporozysten ... 420
4.2.9 Extraintestinale Stadien ... 421
4.2.10 Merogonie (Schizogonie) ... 422
4.2.11 Makrogameten ... 424
4.2.12 Mikrogameten ... 425
4.3 Schadwirkung ... 427

5.0 **Diskussion** ... 429
5.1 Problematik der *Isospora*-Gruppe ... 429
5.2 Endogene Entwicklung von *I. suis* ... 432
5.2.1 Exzystation ... 433
5.2.2 Sporozoiten ... 434
5.2.3 Merogonie (Schizogonie) ... 435
5.2.4 Gamogonie ... 436
5.3 Schadwirkung ... 440

6.0 **Zusammenfassung, Summary** ... 442

7.0 **Literaturverzeichnis** ... 444

8.0 **Anhang** ... 451
Abkürzungen ... 451
Abbildungen 1 - 89 ... 453

1.0 Einleitung

Die Parasitologie der Kokzidien ist sowohl aus biologischer als auch aus wirtschaftlicher Sicht von großem Interesse. Aus ökonomischen Gründen werden heute von den Tierhaltern zur notwendigen Steigerung der tierischen Produktion schnellwüchsige Schweinerassen, die im Alter von 5- 6 Monaten schlachtreif sind, verwendet. So gewinnt auch die bislang gering erachtete Schadwirkung relativ wenig bekann-

ter Parasiten für die Kalkulation landwirtschaftlicher Betriebe an Bedeutung.

Die Kokzidiose ist bei zahlreichen Haustierarten eine ernste Erkrankung, die bei nicht immunen Tieren zum Tode führen kann. In der Regel sind die Schäden um so ausgeprägter, in je früherem Lebensalter die Infektionen erfolgen. Die wirtschaftlichen Verluste werden vor allem durch die teilweise recht erhebliche Entwicklungshemmung und Leistungsminderung verursacht.

Fitzgerald (1972) schätzt den jährlich durch Kokzidieninfektionen beim Rind weltweit verursachten wirtschaftlichen Schaden auf ca. 500 Millionen Dollar. Für die Schweinezucht liegen bislang keine Angaben vor, obwohl auch hier Kokzidieninfektionen ubiquitär verbreitet sind und häufig vorkommen. In der neueren Literatur finden sich unter anderem für *Isospora suis*, die erstmals von Biester und Murray (1934) beschrieben wurde und allgemein als eine weniger bedeutende Kokzidienart beim Schwein angesehen wurde, Angaben zur Häufigkeit des Vorkommens. Indermühle fand 1978 in der Schweiz, daß über die Hälfte (55 %) aller Kokzidieninfektionen bei bis zu 11 Wochen alten Ferkeln durch *I. suis* verursacht wurden. Arbeiten von O'Neill und Parfitt (1976) in England, Sangster et al. (1976, 1978) und Stuart et al. (1978) in Amerika zeigten darüber hinaus, daß entgegen der üblichen Lehrmeinung auch bei noch sehr jungen Saugferkeln Kokzidieninfektionen als Ursache für Diarrhoe und Todesfälle weiter verbreitet sind, als bislang angenommen. Dabei gelangte speziell *I. suis* in den Blickpunkt des Interesses.

Im Vergleich zu den Kokzidien des Geflügels liegen über die endogenen Entwicklungszyklen der Kokzidien anderer Haustiere nur wenige, meist unvollständige Angaben vor. Obwohl schon 1921 die ersten Kokzidienarten beim Schwein beschrieben wurden, sind unsere Kenntnisse zur Biologie, Entwicklung und Pathogenität dieser Parasiten im Verhältnis zu ihrem häufigen Vorkommen erstaunlich gering (Douwes, 1921; Nöller, 1921; Krediet, 1921; Cauchemez, 1921). Zuletzt wurde das Schrifttum zur Morphologie der Schweinekokzidien von Vetterling (1965) umfassend referiert. In den folgenden Jahren begann man sich vereinzelt für die Kokzidien des Schweines zu interessieren. So wurden die Lebenszyklen von *Eimeria debliecki, E. scabra* und *E. polita* detailliert beschrieben (Vetterling, 1966; Rommel und Ipczynski, 1967; Centurier, 1970). Das aber ist nur ein Teil der neun von Vetterling (1965) beim Schwein als gültige Arten anerkannten Spezies. Über die weiteren Arten wie *E. suis, E. spinosa, E. neodebliecki, E. porci, E. cerdonis* und *I. suis* liegen außer für *E. cerdonis*, die als Synonym zu *E. polita* angesehen wird (Rommel, 1969), auch in der neueren Literatur (Pellerdy,

1974 a; Boch und Supperer, 1977) nur wenige Beschreibungen einiger endogener Stadien nach Mischinfektionen vor (Lit. cf. Vetterling, 1965). Nur in zwei Arbeiten konnten endogene Stadien nach experimentellen Infektionen gefunden werden (Biester und Murray, 1934; Wiesenhütter, 1962). Doch gibt es bis heute keine vollständige Beschreibung des endogenen Entwicklungszyklus irgendeiner dieser Kokzidienarten des Schweines.

Um gegebenenfalls geeignete prophylaktische oder therapeutische Maßnahmen ergreifen zu können, ist eine exakte Kenntnis der Biologie, Epidemiologie und Pathogenität der einzelnen Kokzidienarten von elementarer Wichtigkeit.

In der vorliegenden Untersuchung wird der vollständige Entwicklungsgang von *I. suis* beschrieben, die Präpatenz und Patenz des Parasiten, die Ausbildung einer Immunität sowie die vermutete Leistungsminderung im Verlauf einer Infektionsperiode überprüft. Mittels lichtmikroskopisch-histologischer Methoden werden die verschiedenen Entwicklungsstadien im Schwein nach experimenteller Infektion nativ und histologisch dargestellt. Zur Unterstützung und Absicherung der lichtmikroskopischen Befunde wird die Feinstruktur der verschiedenen Stadien herangezogen.

2.0 Vergleichende Darstellung der Entwicklungsbiologie, Morphologie und Pathogenität der Kokzidien des Schweines, insbesondere der Eimeriidae (anhand der Literatur)

Die Kokzidien des Schweines können in zwei Gruppen unterteilt werden. Für die Gattungen *Toxoplasma* und *Sarcocystis* ist das Schwein Zwischenwirt, in dem nur die Schizogonie stattfindet. Für die Gattungen *Eimeria* und *Isospora* ist das Schwein, soweit bekannt, Endwirt, in dem Schizogonie und Gamagonie ablaufen.

2.1 Die Gattungen *Toxoplasma* und *Sarcocystis*

Zu den zahlreichen fakultativen Zwischenwirten für *Toxoplasma gondii* zählt neben dem Menschen auch das Schwein. Die Infektion kann oral durch die vom Endwirt Katze ausgeschiedenen Oozysten sowie durch Aufnahme zystenhaltiger Fleischabfälle oder Nager erfolgen. Die Infektion verläuft beim Schwein ähnlich wie in den übrigen Zwischenwirten. Die Parasiten vermehren sich in den Wirtszellen durch Endodyogenie. Dieser Vorgang kann sich wiederholen, bis sich schließlich Zysten im ganzen Körper, besonders im Gehirn, bilden (Lit. cf. Frenkel, 1974; Boch und Supperer, 1977). Im Dünndarm des Endwirts Katze entwickeln sich nach der Schizogonie Gameten, Zygoten und Oozysten, die unsporuliert mit den Fäzes ausgeschieden werden (Frenkel et al., 1970; Dubey und Frenkel, 1972).

Von der Gattung *Sarcocystis* kennt man bislang zwei Arten, die das Schwein als Zwischenwirt benutzen: Es sind dies *Sarcocystis suihominis* (Heydorn, 1977) mit dem Menschen als Endwirt und *Sarcocystis suicanis* mit dem Hund als Endwirt (Erber, 1977).

Erstmals gelang es Rommel et al. (1972) zu zeigen, daß die Sarkosporidien obligat zweiwirtige Parasiten von Wirbeltieren sind. Bei allen bisher untersuchten Arten ist der Entwicklungszyklus weitgehend ähnlich. Der Endwirt, hier Mensch oder Hund, infiziert sich durch die orale Aufnahme zystenhaltigen Schweinefleisches. Die Zystozoiten entwickeln sich, nachdem sie im Dünndarm freigeworden sind, unterhalb des Epithels direkt zu Mikro- oder Makrogamonten bzw. Gameten. Nach Bildung der Zygote sporulieren die Oozysten innerhalb der Zotten (Heydorn und Rommel, 1972 a, b).

Werden die vom Menschen oder Hund ausgeschiedenen infektiösen Sporozysten vom Schwein aufgenommen, so kommt es in den Endothelzellen kleiner Blutgefäße der verschiedensten Organe zur Schizogonie. Für *S. suihominis* und *S. suicanis* konnten zwei Schizontengenerationen nachgewiesen werden (Heydorn, 1977; Heydorn und Iperynski, 1978; Heydorn und Matuschka, 1980). Die durch die zweite Schizogonie entstandenen Merozoiten dringen in die Muskel- und Nervenzellen ein und reifen zu Zysten heran. In den Zysten entstehen durch teilungsaktive Metrozyten die Zystozoiten, wobei mit zunehmendem Alter der Zyste die Anzahl der durch Endodygenie gebildeten Zystozoiten im Zysteninnern zunimmt. Durch orale Aufnahme reifer Zysten von *S. suihominis* im Form von Hackepeter z. B. für den Menschen und reifer *S. suicanis* Zysten mit rohem Muskelfleisch beim Hund schließt sich der Kreislauf und führt letztlich wieder zur Ausscheidung der infektiösen Sporozysten mit dem Kot.

2.2 Die Gattung *Eimeria*

Von den neun allgemein anerkannten Kokzidien der *Eimeriidae* sollen hier die beschrieben werden, deren Lebenszyklus genauer untersucht ist. *E. debliecki* ist die erste Eimerien-Art des Schweines, die beschrieben und benannt wurde. Erst 45 Jahre später berichtete Vetterling (1966) in einer ausführlichen Untersuchung über Lebenszyklus, Morphologie und Pathogenität des Parasiten. Der gesamte endogene Zyklus fand im Dünndarm statt. Dort ließen sich die Stadien in den Epithelzellen des distalen Bereiches der Zotten nachweisen. Anhand ungleich großer Merozoiten und Schizonten, die zu unterschiedlichen Zeiten auftraten, konnte Vetterling zwei Schizontengenerationen differenzieren.

Eine genaue Beschreibung des Lebenszyklus von *E. scabra* gaben Rommel und Iperynski (1967). Danach fand der gesamte endogene Zyklus im wesentlichen im Jejunum statt; ab der zweiten Schizontengeneration sind einzelne Parasiten auch im Ileum beobachtet worden. Es konnten drei Schizontengenerationen festgestellt werden, die sich durch den Zeitpunkt ihres Auftretens sowie durch Größe und Anzahl der Merozoiten unterschieden (Rommel und Iperynski, 1967).

Die endogene Entwicklung von *E. polita* wurde von Centurier (1970) untersucht. Sie konnte die Parasiten im gesamten Dünndarm des Schweines finden, vermehrt jedoch in den hinteren zwei Dritteln des Dünndarms. Die verschiedenen Stadien fanden sich in den Epithelzellen der Zottenspitzen

sowie in Einstülpungen des Epithels in und an der Lamina propria. Centurier (1970) vermutete zwei Schizontengenerationen mit unterschiedlich großen Merozoiten.

Angaben zur Pathogenität einzelner *Eimeria*-Arten des Schweines sowie zur Leistungsminderung sind nur bei Rommel (1970 b) zu finden. Er untersuchte die Gewichtsentwicklung von Ferkeln nach Monoinfektionen mit *E. polita* sowie *E. scabra*. Beide Eimerien-Arten führten nach einmaliger Applikation in einer dreiwöchigen Versuchsperiode bei Läufern zu einer zwischen 0,9 kg und 2,5 kg verminderten Gewichtszunahme. Bei Saugferkeln, die am 14. Lebenstag mit *E. polita* infiziert wurden, war keine Gewichtsminderung festzustellen. Eine Infektion mit *E. scabra* dagegen bewirkte in der gleichen Zeit eine Leistungsminderung von insgesamt 0,4 kg pro Tier.

2.3 Die Art *Isospora suis*

Nach den wenigen vorliegenden Befunden zu schließen, ist *I. suis* wie die anderen Arten der beim Schwein vorkommenden *Eimeriidae* kosmopolitisch bei Haus- und Wildschweinen verbreitet (Svanbayev, 1969; Kutzer und Hinaidy, 1971). *I. suis* findet man bei Schweinen aller Altersstufen. Wie neuere Untersuchungen gezeigt haben, weist der Parasit allerdings eine deutliche Präferenz für besonders junge Ferkel auf (Kutzer, 1960; Boch et al., 1961; Kutzer und Hinaidy, 1971; Sangster et al., 1976, 1978; O'Neill und Parfitt, 1976; Indermühle, 1978 und Stuart et al., 1978).

Zur Entwicklung und Pathogenität des Parasiten liegt nur die in verschiedener Hinsicht unzulängliche Untersuchung von Biester und Murray (1934) vor. Sie untersuchten nur drei Schweine, die sechs, neun und elf Tage nach der Infektion getötet wurden. Von den 80 Pfund schweren Versuchstieren wird weder Alter noch die applizierte Infektionsdosis angegeben. Sie fanden am sechsten Tag p. i. im gesamten Dünndarm Merozoiten und Schizonten. Am neunten Tag p. i. entdeckten sie wenige Merozoiten, Makrogameten und Oozysten. Von den Autoren konnten 11 Tage p. i. bis auf wenige Oozysten im Rektum des Schweines keine Stadien gefunden werden. Der Dünndarm der experimentell infizierten Schweine zeigte an den Zottenspitzen infolge der weitgehenden Zerstörung der Epithelzellen eine netzartige Struktur. Klinisch bedingte die Infektion Appetitlosigkeit und Bewegungsunlust, Diarrhoe mit schleimhaltigem Kot und anschließender Verstopfung. Versuche, Meerschweinchen oder Hund mit *I. suis* zu infizieren, blieben erfolglos.

Die Größe der unsporulierten Oozysten wird von Biester (1934) sowie Biester und Murray (1934) mit durchschnittlich 22 × 19,42 µm angegeben. Die Variationsweite der Oozysten ist, auch wenn die Angaben anderer Autoren etwas divergieren, im Vergleich zu den oben beschriebenen Eimerien gering (Paichuk, 1953; Kutzer, 1960; Boch et al., 1961; Vetterling, 1965). Die Sporozysten messen nach Biester und Murray (1934) im Durchschnitt 16,37 × 11,17 µm und sind damit um 3 µm länger und fast 2 µm breiter als die von Vetterling (1965) gemesenen Sporozysten. Weit mehr allerdings differieren die Angaben von Biester und Murray (1934) zur Präpatenz und Patenz von den bei Vetterling (1965) genannten Zeiten. Sie geben für die Präpatenz sechs bis acht Tage und die Patenz sieben Tage an. Vetterling (1965) dagegen beschreibt fünf Tage für die Präpatenz und nennt nur drei Tage Patenz.

Die Sporulation ist nach Vetterling (1965) bei 23° C in 68 Stunden abgeschlossen, wohingegen Kutzer (1960) und Boch et al. (1961) vier bzw. drei bis fünf Tage angeben.

2.4 Neuere Ergebnisse zur Entwicklung isosporider Kokzidien

Bis zu den Untersuchungen von Dubey und Frenkel (1972) und Frenkel und Dubey (1972) an *I. felis* und *I. rivolta* sah man in *Isospora*-Arten von Hund und Katze einwirtige Parasiten, die stets nur oral durch sporulierte Oozysten von Wirt zu Wirt ohne Einschaltung eines Zwischenwirtes übertragen werden. Darüber hinaus galt allgemein, daß bei den *Isospora*-Arten die endogene Entwicklung nur im Darm entsprechender Wirte stattfindet. Bis heute sind beim Hund der endogene Zyklus von *I. neorivolta* (Mahrt, 1967; Dubey und Mahrt, 1978), *I. canis* (Lepp und Todd, 1974), *I. ohioensis* (Dubey, 1978) und *I. burrowsi* (Trayser und Todd, 1978) beschrieben worden. Von der Katze sind *I. felis* und *I. rivolta* genauer untersucht worden (Shah, 1971; Dubey, 1979).

Darüber hinaus liegen die Beschreibungen der Lebenszyklen von zwei beim Kanarienvogel parasitierenden Isospora-Arten, *I. serini* und *I. canaria*, vor (Box, 1977).

Die schon genannten Untersuchungen von Dubey und Frenkel (1972), Frenkel und Dubey (1972) an *I. felis* und *I. rivolta* in Katzen und Nagetieren, Arbeiten von Dubey (1975 a) an *I. felis* und *I. canis* in Katzen, Hunden und Mäusen sowie Dubey und Streitel (1976) an *I. felis* und *I. rivolta* sowohl in Katzen als auch in Mäusen und von Dubey (1978, 1979) an *I. ohioensis* in Hunden und Mäusen ergaben übereinstimmend: Der Zyklus der genannten Parasiten findet nicht ausschließlich im Darm der Wirte statt, und es gibt fakultative Zwischenwerte. Die Zusammenfassung der Befunde ergab für die bei Hund und Katze vorkommenden *Isospora*-Arten folgendes Bild: Nach dem derzeitigen Stand scheint es keine Art zu geben, die ausschließlich von Endwirt zu Endwirt übertragen wird. Alle bislang daraufhin untersuchten Parasiten können neben dem bekannten direkten Entwicklungsgang der *Isospora*-Arten einen fakultativen Zwischenwirt einschalten.

Die Zwischenwirte müssen sich zuvor oral an geeigneten Ooozysten infiziert haben. Nach neuesten Untersuchungen (Gebelhoff, 1978; Heydorn, 1979; Fayer und Frenkel, 1979; Wolters et al., 1980) kommen die Stadien von *I. felis* nicht nur in Nagern, sondern auch in Schlachttieren vor.

Nach Frenkel (1977) liegen die Stadien im Zwischenwirt einzeln in Zysten. Elektronenmikroskopische Untersuchungen von Mehlhorn und Markus (1976) ergaben, daß die Zoiten von *I. felis* in der Maus in einer einfachen parasitophoren Vakuole ohne Zystenwand liegen. Die Autoren fanden keine Hinweise auf einen Vermehrungsprozeß.

Überdies können Katzen und Hunde durch Verfüttern von extraintestinalen Geweben zuvor infizierter Hunde oder Katzen angesteckt werden. Hund und Katze können sich also prinzipiell auf zwei verschiedenen Wegen infizieren: direkt durch Aufnahme sporulierter Ooozysten oder durch Fressen extraintestinaler Stadien aus Zwischenwirten, die sich an entsprechenden Oozysten infiziert hatten. Ein Infektion durch extraintestinale

Stadien kann auch durch Kannibalismus erfolgen, wenn sich der andere Hunde oder die andere Katze zuvor an Oozysten infiziert hatten. Diese Befunde sind sowohl durch Versuche zur Biologie der Parasiten als auch histologisch belegt (Dubey und Frenkel, 1972; Frenkel und Dubey, 1972; Dubey, 1975 a; Dubey und Streitel, 1976, Dubey, 1978, 1979).

Völlig anders verläuft hingegen die Entwicklung der beiden vom Kanarienvogel beschriebenen *Isospora*-Arten. Bei *I. serini* beginnt die Schizogonie extraintestinal in mononuklearen Phagozyten der Lunge (fünf Generationen) und wird dann im Dünndarm fortgesetzt (zwei Generationen), wo anschließend auch die Gamogonie stattfindet. *I. canaris* dagegen hat einen konventionellen Zyklus, der in den Epithelzellen des Dünndarms mit drei Schizontengenerationen und nachfolgender Gamagonie abläuft. Beide Arten sollen nur durch Oozysten von Endwirt zu Endwirt übertragbar sein (Box, 1977).

Die Ausführungen haben gezeigt, daß wir es bei der Gattung *Isospora* selbst bei Ausschluß von *Toxoplasma, Sarkosporidien, Besnoitien* und *Hammondien* mit einer recht heterogenen Gruppe von Parasiten zu tun haben, die weiterer Untersuchungen bedarf.

3.0 Material und Methoden

3.1 Infektionsmaterial

Oozysten von *I. suis* wurden aus Kot natürlich mono-infizierter Absatzferkel aus einem Berliner Ferkelaufzuchtbetrieb isoliert. Die Vermehrung des Infektionsmaterials erfolgte durch Infektion kokzidienfreier Ferkel. Die durch das Flotationsverfahren mit Zinkchlorid-Kochsalz-Lösung (Boch und Supperer, 1977) gewonnenen Oozysten wurden nach dem Sporulieren sehr sorgfältig auf eventuell vorhandene andere Kokzidienarten untersucht. In keinem Fall konnten andere als *I. suis*-Oozysten entdeckt werden. Die Oozysten verblieben nach abgeschlossener Sporulation in 2,5 %igem Kaliumdichromat bei 4° C.

Der Kot aller Versuchstiere wurde stets bis 14 Tage nach Ende der Patenz der infizierten Tiere untersucht.

3.2 Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten insgesamt 116 Ferkel der Deutschen Landrasse, die aus einem Berliner Herdbuchzuchtbetrieb stammten. Zum Zeitpunkt der Infektion hatten die Tiere ein Alter von 12 Stunden bis 28 Tage. Um kokzidienfreie Ferkel zu erhalten, kamen die Sauen acht bis zehn Tage vor dem errechneten Abferkeltermin erst nach gründlicher Reinigung und Waschen mit Desinfektionslösung in den Abferkelstall. Der Kot der Sauen wurde nach der Umstallung täglich auf Kokzidienoozysten untersucht.

Die Sauen wurden in einem gesonderten Stall, der nach der Rein-Raus-Methode belegt wird, in Abferkelboxen aufgestallt. Zuvor wurde der Stall mit dem Hochdruckdampfstrahlreiniger mehrfach einer Ganzraumdesinfektion unterzogen. Es gelangten nur Ferkel zum Versuch, bei denen durch tägliches Untersuchen sichergestellt war, daß weder bei den im Stall vor-

handenen Sauen noch bei den Ferkeln selbst spontane Kokzidieninfektionen vorlagen. Bei jedem Versuch wurden Wurfgeschwister als Kontrollen unter gleichen Bedingungen bis zu 14 Tage nach Versuchsende täglich auf mögliche Infektionen überprüft. Die Sauen erhielten pelletiertes Fertigfutter und Wasser ad libitum. Die Ferkel bekamen ein unpelletiertes Mischfutter vom Typ „Ergänzungsfutter für Saugferkel" als Alleinfutter und Wasser zur beliebigen Aufnahme. Ferkel, die zur Untersuchung der Pathogenität, Patenz und Präpatenz, der Vermehrung des Infektionsmaterials sowie zur Überprüfung auf extraintestinale Stadien Verwendung fanden, wurden zwischen dem 18. und 21. Tag post partum abgesetzt. In gekachelten Einzelbuchten, in denen Käfige mit Rosten und unterliegenden Auffangbehältern aus Edelstahl angebracht waren, verblieben die Tiere bis zum Versuchsende in Einzelhaltung, d. h. je ein Ferkel in einem Käfig und einer Buchte. Die Käfige, die Auffangbehälter und die Futternäpfe wurden einmal täglich — bei Patenz- und Präpatenz-Versuchen zweimal — sterilisiert. Der Kot wurde täglich vor dem Sterilisieren gesammelt und untersucht.

3.3 Experimentelle Infektionen

Zur Infektion wurden Oozysten mittels Gradientenzentrifugation gereinigt, zweimal gewaschen und in etwa 5 ml Wasser resuspendiert. Folgende Methode gewährleistete die vollständige Aufnahme der Oozysten: Die oozystenhaltige Suspension wurde in einer Einmalspritze aufgezogen und mit einer Schlundsonde den Ferkeln oral direkt in den Oesophagus verabreicht. Durch Auszählung der Oozysten in der McMaster-Kammer erfolgte die Bestimmung der Infektionsdosis. Alle zur Infektion verwendeten Oozysten waren zwischen 1 und 3 Monaten alt.

Zehn Ferkel im Alter von 18—21 Tagen wurden zur Vermehrung des Ausgangsmaterials mit je 10^6 Oozysten inokuliert. Die Präpatenz und Patenz wurde an 56 Ferkeln, die im Alter von 14—28 Tagen mit 10^4, 10^5 oder 10^6 *I. suis*-Oozysten infiziert worden waren, bestimmt. Der licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchung diente die Infektion von insgesamt 20 Ferkeln. Die Infektionsdosis lag zwischen 10^6 und 7×10^6 Oozysten pro Tier.

Nach 24, 48, 72, 96, 120, 144 und 168 Sunden post infectionem wurden jeweils zwei Tiere getötet. Eine Gruppe von 7 Ferkeln war zum Zeitpunkt der Infektion 12 - 24 Stunden, eine zweite 18 - 21 Tage alt. Die erste Gruppe blieb bis zur Tötung an der Sau, die zweite wurde zum Zeitpunkt des Absetzens infiziert.

Da bei der Bestimmung der Patenzperiode regelmäßig zwei Ausscheidungsmaxima mit einem Abstand von etwa 5 - 6 Tagen auftragen, wurden die Oozysten des 1. - 3. Tages der Ausscheidung von denen des 7. - 9. Tages getrennt gesammelt und angereichert. Die Oozysten der Ausscheidungshöhepunkte wurden an je zwei kokzidienfreie Ferkel (10^5 Oozysten pro Tier) oral appliziert und die Präpatenz und Patenz bestimmt.

3.4 Oozystengewinnung

Zur Gewinnung der Oozysten wurde der Kot in einem Gemisch aus einem Teil gesättigter Zinkchloridlösung und zwei Teilen gesättigter Natriumchloridlösung mit dem spezifischen Gewicht von 1,3 aufgeschwemmt,

gesiebt und etwa 5 Minuten bei 300 g zentrifugiert. Die von der Oberfläche des Überstandes abgesaugten Oozysten wurden anschließend zweimal mit Wasser ausgewaschen und in 2,5 %iger Kaliumdichromatlösung in Petrischalen bei 23 - 25° C zum Sporulieren aufgestellt. Mehrmaliges Umschwenken pro Tag diente der Belüftung der Oozysten. Die sporulierten Oozysten wurden bei 4 °C aufbewahrt.

3.5 Bestimmung der Schadwirkung

Für diesen Versuch standen 20 kokzidienfrei aufgezogene Ferkel zur Verfügung. Die Ferkel wurden am 21. Lebenstag von der Sau abgesetzt und in Aufzuchtkäfige mit Drahtboden und einer Liegefläche aus Holz, mit den Innenmaßen 100 × 125 cm, paarweise so im Stallraum verteilt, daß zwischen den Tieren verschiedener Käfige kein Kontakt bestand. Futter stand über Automaten und Wasser über Nippeltränken ad libitum zur Verfügung. Die Stalltemperatur lag bei 24° C, die relative Luftfeuchtigkeit schwankte zwischen 40 und 60 %.

Die Aufstallung der Versuchstiere erfolgte nach gründlicher Reinigung und mehrfacher Ganzraumdesinfektion des Stalles mit dem Hochdruckdampfstrahlgerät. Die Tiere wurden nach Abstammung, Lebendmasse und Geschlecht in zwei Gruppen (2 × 10 Tiere) aufgeteilt. Die zehn Tiere jeder Gruppe wurden auf 5 Käfige (5 × 2) aufgeteilt, wobei jeder Käfig eine Versuchseinheit darstellte, so daß sich je Gruppe 4 Wiederholungseinheiten ergaben. Vom 10. Lebenstag an erhielten die Ferkel in den Abferkelboxen und nach dem Absetzen über die gesamte Versuchsperiode das gleiche unpelletierte Ferkelaufzuchtfutter. Die Tiere wogen durchschnittlich 5 kg. Eine Gruppe (5 × 2 Tiere) wurde zu Versuchsbeginn, am Tage des Absetzens, mit je 10^5 *I. suis*-Oozysten oral infiziert. Die Untersuchung erstreckte sich über vier Wochen. Als Versuchskriterien dienten die Leistungsparameter Gewichtszunahme, Futterverzehr und Futterverwertung aufgrund wöchentlicher Wägung. Die Ergebnisse wurden mit mathematischstatistischen Methoden, Varianzanalyse, Kovarianzanalyse ausgewertet und die Mittelwerte beider Gruppen über den t-Test auf signifikante Unterschiede geprüft. Sechs Wochen nach der ersten Infektion der zehn Ferkel mit je 10^5 *I. suis*-Oozysten wurden zur Überprüfung der Immunitätslage erneut 10^6 *I. suis*-Oozysten pro Tier verabreicht.

Zur Untersuchung der Verbreitung von *I. suis* bei jungen Saugferkeln wurwurden Kotproben von 108 Würfen zwei Wochen alter Ferkel aus verschiedenen Beständen Nordbayerns untersucht.

3.6 Exzystierung von Sporozoiten

Um die Sporozoiten messen zu können und für die Elektronenmikroskopie eine bessere Fixierung zu erhalten, sollten sie exzystiert werden. Zur Exzystierung wurde die Oozystensuspension mit Hilfe der Gradientenzentrifugation gereinigt und mit Phosphatpuffer pH 7,4 gewaschen. Um die Sporozysten freizusezen, wurden danach die Oozysten in einem motorbetriebenen Homogenisator mit einem Teflonpistill etwa drei Minuten vorbehandelt. Nach dem Abzentrifugieren wurden die im Pellet enthaltenen Sporozysten zur Exzystierung der Sporozoiten in einem Medium, bestehend

aus 0,4 % Trypsin und 8 % Schweinegalle in Phosphatpuffer, resuspendiert und bei 38 °C für 20 - 30 Minuten belassen.

3.7 Untersuchung auf extraintestinale Stadien

Für die Untersuchung auf extraintestinale Stadien wurde ein 18 Tage altes kokzidienfreies Ferkel mit 10^6 *I. suis*-Oozysten oral infiziert und am 29. Tag p. i. getötet. Leber, Milz, Darmlymphknoten und Muskelstücke wurden im Mixer unter Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung zerkleinert und durch Gaze gesiebt. Die so erhaltene Suspension wurde an zwei kokzidienfreie Ferkel oral mittels Sonde verabreicht. Weiter wurden Organe und Muskulatur von zwei NMRI-Mäusen, denen drei Monate zuvor je 10^5 Oozysten oral appliziert worden waren, auf die gleiche Weise zerkleinert und an ein kokzidienfreies Ferkel oral appliziert. Der Kot dieser Ferkel wurde drei Wochen lang täglich auf *I. suis*-Oozysten untersucht. Käfige und Futternäpfe wurden täglich sterilisiert. Außerdem wurden zur Überprüfung auf extraintestinale Stadien die Mesenteriallymphknoten von am 5. und 7. Tag p. i. getöteten Ferkeln nativ im Abklatschverfahren sowie nach Trypsinverdauung untersucht. Von 24 - 168 Stunden p. i. wurden im Abstand von 24 Stunden Lymphknotentupfpräparate nach Giemsa gefärbt und mikroskopiert. NMRI-Mäuse, denen je 5×10^5 *I. suis*-Oozysten oral appliziert worden waren, wurden am dritten Tag p. i. sowie am achten Tag p. i. getötet. Mesenteriallymphknoten, Peyersche-Platten, Milz und Leber wurden nativ und in nach Giemsa gefärbten Tupfpräparaten auf Parasiten untersucht.

3.8 Lichtmikroskopie

Alle für die Histologie sezierten Ferkel wurden auf pathologisch-anatomische Veränderungen untersucht. Vom Dünndarm, Blinddarm und Dickdarm wurden alle 15 - 20 cm Schleimhautgeschabsel nativ mikrokopiert. In gleichen Abständen wurden von der Mukosa Quetsch-, Ausstrich- und Tupfpräparate hergestellt und nach Giemsa gefärbt. Zur histologischen Untersuchung wurden in den genannten Abständen Proben entnommen und in gepuffertem 4 %igem Formalin fixiert. Von den am stärksten befallenen Darmabschnitten wurden Paraffinschnitte angefertigt. Die etwa 5 µm dicken Schnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin und nach Heidenhain gefärbt. Für die Lichtmikroskopie standen folgende Geräte zur Verfügung: Zeiss Standard-Mikroskop, Zeiss-Fotomikroskop III und ein Leitz Dialux mit Reichert Fotoaufsatz. Alle Messungen wurden mit dem Zeiss Standard-Mikroskop bei 640facher Vergrößerung vorgenommen. Alle Maße sind, falls nicht anders angegeben, Mittelwerte aus hundert Messungen.

3.9 Transmissionselektronenmikroskopie

3.9.1 Dünnschnittechnik

Schleimhautgeschabsel des Dünndarms wurden in 0,1 m cacodylatgepufferter 2,5 %iger Glutaraldehydlösung fixiert und mit 1,5 %igem OsO_4 nachfixiert. Nach dem Auswaschen in Cacodylatpuffer folgte die Entwässerung

über Alkohol und Propylenoxid. Als Einbettungsmittel diente ERL (Spurr, 1969). Die Dünnschnitte, die mit einem Reichert OM U 2 angefertigt wurden, kamen auf Formvar oder Pioloform befilmte Kupferschlitzblenden oder unbefilmte Netze. Die Ultradünnschnitte wurden mit wässriger oder alkoholischer Uranylacetatlösung und Bleicitrat (Reynolds, 1963) 20 - 50 bzw. 10 Minuten kontrastiert. Die Sporozoiten wurden mit 6,25 %igem Glutaraldehyd fixiert.

Für die Auswertung der Schnitte diente ein Zeiss Elektronenmikroskop 9 S 2.

Die Semidünnschnitte wurden mit einer wäßrigen Methylenblau/Azur-II-Lösung bei 60 °C gefärbt.

3.9.2 Gefrierätztechnik

Gereinigte Oozysten wurden mit dem Propan-Jet-Verfahren (Moor et al., 1976) im schmelzenden Stickstoff (Umrath, 1974) oder in flüssigem Freon in 30 %iger Glycerinlösung auf Goldträgern eingefroren. Die Präparate wurden bei — 100 °C mit dem Messer oder mit Doppelbruch gebrochen, für 5 Minuten bei einem Vakuum von mindestens 5×10^{-7} Torr geätzt und dann mit Platinkohle bedampft. Bruch und Bedampfung erfolgten in einer Balzers BAF 300 mit Elektronenstrahlkanonen und Schwingquarzschichtdickenmessung. Die Replica wurden mit Eau de Javelle und Chromsäure gereinigt, in destilliertem Wasser gewaschen und mit 300er Kupfernetzen aufgenommen.

3.10 Rasterelektronenmikroskopie

Vom Dünndarm wurden etwa 5 - 10 mm lange Stücke entnommen, aufgeschnitten und in 2,5 %iger cacodylatgepufferter Glutaraldehydlösung fixiert. Nach dem Waschen in Puffer wurde mit 1,5 %igem OsO_4 nachfixiert, über Alkohol dehydriert und in einem Bomar-SPC-900/EX Critical Point Dryer mit Frigen getrocknet. Die getrockneten Objekte wurden unter Argon mit Gold besputtert und in einem Cambridge Stereoscan 180 untersucht. Zur Kontrolle wurde der Dünndarm kokzidienfreier Ferkel dem gleichen Modus unterzogen.

Zur Darstellung intrazellulärer Stadien wurden Dünndarmstückchen nach der Alkohol-Dehydrierung in flüssigem Stickstoff gebrochen und dann im Critical Point Dryer getrocknet.

4.0 Ergebnisse

4.1 Infektionsverlauf, klinische Symptome und Pathologie

Die Untersuchung von insgesamt 56 Ferkeln im Alter von 12 Stunden bis zu 4 Wochen, die mit Dosen zwischen 10^3 und 10^6 sporulierten Oozysten von *I. suis* infiziert wurden, ergab eine Präpatenz zwischen 132 und

144 Stunden. Die längste experimentell ermittelte Patenz betrug 18 Tage, die kürzeste 10 Tage. Die Patenz verlief stets mit zwei Maxima der Oozystenausscheidung, zwischen denen die Tiere negativ sein konnten. Ein erster Ausscheidungshöhepunkt lag zwischen dem 1. und 3. Tag der Patenz, der zweite kleinere zwischen dem 7. und 9. Tag der Patenz.

Alle Ferkel, die eine Million oder mehr Oozysten appliziert bekamen, erbrachen sich 3 - 6 Stunden später. Im Erbrochenen konnten Oozysten nachgewiesen werden. Während Ferkel im Alter von 21 Tagen diese Infektion überlebten, verendeten neugeborene Ferkel innerhalb von 3 - 5 Tagen.

Klinisch fiel an den überlebenden Tieren ein deutliches Nachlassen des Appetits zwischen dem 3. und 7. Tag p. i. auf. Die Ferkel hatten ab dem 3. Tag p. i. sehr starken wässrigen Durchfall, der meist ab dem 6. oder 7. Tag p. i. in intermittierende Diarrhoe überging. Etwa zwei Tage vor dem 2. Ausscheidungsmaximum bekamen die Tiere in der Regel noch einmal sehr starken, 48 - 72 Stunden anhaltenden Durchfall.

Die Reaktionen der Ferkel auf die experimentellen Infektionen waren individuell verschieden. Sie reichten von leichter bis zu schwerer katarrhalischer oder sogar starker haemorrhagischer Entzündung des Dünndarms. Das Epithel war ab dem 4. Tag p. i. partiell abgehoben. Die Ferkel hatten einen starken Aszites. Im Kot der Tiere fanden sich bisweilen blutige Schleimhaut- und Epithelfetzen. Die mit den heftigen Durchfällen verbundene Exsikkose führte zu erheblich vermehrter Flüssigkeitsaufnahme.

4.2 Die endogene Entwicklung von *I. suis*

Die Parasitensuche war relativ aufwendig, da die Infektionsdosis im Verhältnis zur Länge des Dünndarms von bereits 4 - 5 m bei neugeborenen Ferkeln verhältnismäßig gering sein mußte. Bei 10^6 *I. suis*-Oozysten und mehr traten Todesfälle und Erbrechen auf. Weder im Caecum noch im Colon konnten Entwicklungsstadien gefunden werden. Vielmehr fand der Zyklus im gesamten Dünndarm statt. Die Parasiten saßen in der Regel im distalen Bereich der Zotten. Neben den Epithelzellen waren bisweilen auch Becherzellen befallen. Die Mehrzahl der Stadien lag proximal des sichelförmig deformierten Wirtszellkernes. Doch auch lateral und distal des Wirtszellkernes konnten Parasiten angetroffen werden. In den ersten 48 Stunden saßen die Stadien besonders tief im Epithel. Von den zwanzig Ferkeln, die entweder im Alter von 12 - 24 Stunden oder nach dem Frühabsetzen mit 21 Tagen experimentell für die histologischen Untersuchungen infiziert worden waren, verendeten 6 Ferkel vorzeitig. So wurden insgesamt 14 Ferkel zur Untersuchung

herangezogen, und zwar nach 24, 48, 72, 96, 120, 144 und 168 Stunden post infectionem.

4.2.1 24 Stunden p. i.

Vierundzwanzig Stunden nach der Infektion waren im Duodenum, Jejunum einschließlich Ileum nativ wenige freie Zoiten zu sehen. Die meisten Parasiten waren tief in die Epithelzellen eingedrungen. Soweit man das lichtmikroskopisch beurteilen kann, rundeten sich die eingedrungenen Parasiten nicht ab (Abb. 1). Die Anzahl der eingedrungenen sowie im Darmlumen befindlichen Zoiten, mit einem Maximum im ersten Drittel des Jejunums, nahmen zum Ileum hin kontinuierlich ab.

In nach Giemsa gefärbten Tupfpräparaten und in histologischen Schnitten waren bei Parasiten, die sich im Darmlumen befanden oder schon in Epithelzellen eingedrungen waren, zweikernige Stadien festzustellen (Abb. 2). Vereinzelt lagen zwei Parasiten in einer Wirtszelle dicht beieinander (Abb. 4). Ob diese Zoiten aus einer Teilung in einer parasitophoren Vakuole der befallenen Wirtszelle stammen, oder ob hier zwei Parasiten in eine Wirtszelle eingedrungen waren, konnte zu diesem Zeitpunkt lichtmikroskopisch nicht unterschieden werden. Nativ waren die freien Zoiten zwischen 12,5 und 16,0 μm lang und etwa 3,0 bis 4,5 μm breit. Einige bereits in Epithelzellen eingedrungene Parasiten hatten noch das Aussehen eines Sporozoiten (Abb. 1). Andere Stadien waren schon zweikernig (Abb. 2) und offensichtlich auch bisweilen in Teilung begriffen (Abb. 3).

4.2.2 48 Stunden p. i.

Am zweiten Tag p. i. waren im wesentlichen die gleichen Stadien wie am ersten Tag zu sehen. Sporozoiten konnten allerdings nicht mehr gefunden werden. Vor allem hatten die Formen zugenommen, die paarweise in einer Epithelzelle lagen (Abb. 4). Stark vermehrt hatten sich auch die zweikernigen Stadien (Abb. 5). Nativ war jetzt die Größenverteilung der im Darmlumen auftretenden Merozoiten gleichmäßiger als 24 Stunden zuvor. Die Merozoiten maßen bis etwa 18,9 $\times$ 4,7 μm. In histologischen Schnitten und in nach Giemsa gefärbten Tupfpräparaten unterschieden sich die etwas dickeren zweikernigen, die zu diesem Zeitpunkt überwogen, deutlicher von den schlankeren einkernigen Formen (Abb. 5).

4.2.3 72 Stunden p. i.

Drei Tage p. i. hatten sich die Parasiten schon beträchtlich vermehrt. Es waren überwiegend Meroziten zu erkennen, die zwei Kerne besaßen

oder zu zweit in einer Epithelzelle lagen. Auch im Darmlumen waren vermehrt Parasiten vorhanden. Sie besaßen oft zwei deutlich anfärbbare Kerne. Erstmals waren Parasiten mit vermutlich mehr als zwei Kernen darstellbar (Abb. 6). Diese mehrkernigen Merozoiten waren besonders deutlich in nach Giemsa gefärbten Tupfpräparaten zu erkennen (Abb. 6). Nativ waren sie nicht zu unterscheiden von den ein- und zweikernigen Formen. In histologischen Schnitten fanden sich neben den zahlreichen paarweise in einer Epithelzelle liegenden Parasiten auch Wirtszellen, in denen vier Merozoiten beieinander lagen (Abb. 7, 46).

4.2.4 96 Stunden p. i.

Das Darmlumen wies am vierten Tag p. i. Merozoiten von auffallend unterschiedlicher Größe auf. Neben den ein- und zweikernigen Formen traten zu diesem Zeitpunkt viele mehrkernige Parasiten in und außerhalb der Epithelzellen auf (Abb. 10). Die kleineren Merozoiten maßen nativ etwa 12,6 × 3,1 µm, die größeren ca. 19,6 × 6,3 µm. Letztere waren in der Überzahl. Es schien allerdings, als seien die Übergänge fließend (Abb. 8, 10). In histologischen Schnitten und in nach Giemsa gefärbten Tupfpräparaten waren weiterhin einzeln in einer Zelle liegende einkernige Merozoiten bis zu mehrkernigen teilweise schon abgerundeten jungen Schizonten darstellbar (Abb. 9, 10, 11). Darüber hinaus waren reife Schizonten vorhanden. Diese reifen Schizonten besaßen vier bis sechzehn Merozoiten. Es gab zwei Schizontenformen, die sich durch die Größe der Merozoiten unterschieden. Der eine Schizontentyp hatte Merozoiten von 16 × 4 µm Größe, der andere Merozoiten, die 9,5 × 2,5 µm maßen (Abb. 12, 13).

4.2.5 120 Stunden p. i.

Zusätzlich zu den verschiedenen großen Merozoiten, den zwei- und mehrkernigen Formen, den reifen Schizonten, von denen es noch zwei mit unterschiedlich großen Merozoiten gab, waren fünf Tage nach der Infektion alle Stadien der Gamogonie sowie bereits die ersten jungen Oozysten nachweisbar (Abb. 14 bis 25). An der Peripherie der Mikrogamontenrestkörper konnten zwischen 30 und 60 Mikrogameten gezählt werden (Abb. 14, 22).

4.2.6 144 Stunden p. i.

Unsporulierte Oozysten und reife Gamonten sowie Gameten bestimmten am sechsten Tag p. i. das Bild. Zygoten und junge Oozysten (Abb. 14, 20) fanden sich vermehrt in der zweiten Hälfte des Dünndarms. Freie

Oozysten waren im Inhalt des gesamten Dickdarms nachweisbar. Reife Mikrogameten bewegten sich rasch mit zwei etwa gleich langen Geißeln (Abb. 23). Daneben waren alle Stadien vertreten, die schon 24 Stunden zuvor zu sehen waren (Abb. 14 bis 25).

4.2.7 168 Stunden p. i.

Im Vergleich zum sechsten Tag waren am siebten Tag die Gamogoniestadien zurückgetreten. Zwar gab es noch zahlreiche Oozysten, Mikro- und Makrogamonten und Mikro- und Makrogameten, vereinzelt kleine und große Schizonten bzw. Merozoiten, doch gab es wieder mehr zweikernige und paarweise in einer Epithelzelle liegende Formen (Abb. 26 bis 29).

4.2.8 Beschreibung der Oozysten und Sporozysten

Die Abmessungen unsporulierter und frisch sporulierter *I. suis*-Oozysten und Sporozysten sind der Tabelle 1 zu entnehmen (Abb. 30 bis 33).

Tabelle 1

Größenangaben zu den Oozysten und Sporozysten von *I. suis* in μm

		Oozysten unsporuliert n = 100	Oozysten sporuliert n = 100	Sporozysten n = 100
Länge	Mittel ± Standardabweichung	20,16 ± 1,25	21,54 ± 1,11	15,47 ± 0,80
	Variationsweite	17,60 — 22,40	19,20 — 24,00	14,40 — 16,00
Breite	Mittel ± Standardabweichung	16,94 ± 0,98	18,80 ± 1,03	11,02 ± 0,96
	Variationsweite	16,00 — 19,20	17,60 — 20,80	9,60 — 12,80

Frisch sporulierte Oozysten waren ovoid, und der Länge-Breite-Koeffizient betrug im Mittel 1,15. Die Oozystenwand war glatt, farblos bis leicht rosa tingiert und deutlich unter 1 μm dick. Die Oozysten besaßen keine Mikropyle, keine Polkörperchen und keine Oozystenrestkörper (Abb. 30 bis 33). Die beiden Sporozysten waren ellipsoid und besaßen je vier Sporozoiten. Ein großer Sporozysten-Restkörper war stets

vorhanden, wohingegen ein Stiedakörperchen fehlte. Der Länge-Breite-Koeffizient der Sporozysten lag im Mittel bei 1,40. Die Sporulationszeit der stets unsporuliert ausgeschiedenen Oozysten betrug etwa 24 bis 48 Stunden in 2,5 %iger $K_2Cr_2O_7$-Lösung bei 25 °C (Abb. 30 bis 33). Die Sporozoiten waren nativ ca. 14 × 3 µm groß und besaßen sogenannte refraktile Körper.

Die sporulierten Oozysten können bei 4 °C in 2,5 %iger $K_2Cr_2O_7$-Lösung mehr als 2 Jahre überleben.

Die sporulierten Oozysten wurden sowohl mit Gefrierätztechnik als auch mit Dünnschnittechnik elektronenoptisch untersucht. Von der Oozystenwand ließ sich die Sporozystenwand im Gefrierbruch wie im Dünnschnitt durch charakteristische „Nahtstellen" unterscheiden, an denen die Sporozystenwand im Verdauungsversuch aufging und die Sporozoiten herausgelangten (Abb. 77, 80, 81). Die Sporozyste enthielt neben den vier Sporozoiten einen Restkörper, der verschiedene Vakuolen und andere Reste des ehemaligen Sporoblastenplasmas umfaßte (Abb. 80). Die langgestreckten, bananenförmigen Sporozoiten waren von einer typischen dreischichtigen Pellikula umgeben (Abb. 76, 78, 80, 85). Bei manchen Sporozoiten war die Pellikula lateral in mehreren regelmäßigen Falten angeordnet (Abb. 78, 80). Im Zytoplasma der Parasiten fanden sich die üblichen Organellen der beweglichen ungeschlechtlichen Formen. Die sogenannten refraktilen Körper, die ein charakteristisches Merkmal dieser Entwicklungsstadien sind, lagen vor und hinter dem Nukleus (Abb. 78, 80, 85). Im Bereich des hinteren refraktilen Körpers war in der Regel ein nahezu kreisrunder elektronenlichter Bezirk mit einem Durchmesser von 1,6 µm vorhanden (Abb. 78, 85). Die refraktilen Körper waren von keiner Membran umgeben. Das homogene osmiophile Material der refraktilen Körper ließ auch im Gefrierbruch keine kristalloide Struktur erkennen (Abb. 76).

Die refraktilen Körper waren aus kleinen runden Partikeln von ca. 0,06 µm Größe aufgebaut (Abb. 76, 78).

4.2.9 Extraintestinale Stadien

Das Verfüttern von Organen zuvor mit sporulierten *I. suis*-Oozysten infizierter Ferkel und NMRI-Mäuse an kokzidienfreie Ferkel führte in keinem Fall zur Ausscheidung von Oozysten. Weder bei der Untersuchung nach der Verdauungsmethode noch nach Durchmustern der nach Giemsa gefärbten Abklatschpräparate von Organen zuvor infizierter Ferkel und Mäuse konnte ein Hinweis auf extraintestinale Stadien gefunden werden.

4.2.10 Merogonie (Schizogonie)

Am ersten Tag p. i. waren offenbar gerade eingedrungene Sporozoiten einkernig (Abb. 34). Wie Längs- und Querschnitte durch Parasiten zeigten, sind typische Rhoptrien, Mikronemen, Conoid, subpellikuläre Mikrotubuli, dreischichtige Pellikula und Mikroporen ausgebildet. Dabei fiel allerdings bei den mobilen Parasiten, die noch nicht oder nicht mehr in einer parasitophoren Vakuole lagen, die große Anzahl angeschnittener Rhoptrien auf.

Darüber hinaus traten in den Epithelzellen Parasiten auf, die proximal des Wirtszellkernes in einer schmalen parasitophoren Vakuole lagen und nicht mehr als Sporozoiten bezeichnet werden konnten. Die parasitophore Vakuole mit diesen Parasiten befand sich meist in unmittelbarer Nähe des Wirtszellkernes. Dieser konnte noch unverändert erscheinen oder vergrößert und gelappt sein (Abb. 35). Der Nukleus der Parasiten enthielt einen sehr osmiophilen Bereich, der von zahlreichen ER Lakunen umgeben war (Abb. 35). In weiter entwickelten Parasiten waren bereits Zentriolen und Kernspindeln vorhanden (Abb. 36).

Etwa 48 Stunden p. i. konnten im Lumen wie in den Dünndarmepithelien überwiegened Parasiten beobachtet werden, bei denen der Nukleus auffällig verändert war. Merozoitenförmige, einkernige Stadien wiesen, wie schon für 24 Stunden p. i. beschrieben, Organelle des Kernteilungsprozesses auf. Die lichtmikroskopisch zweikernig erscheinenden Parasiten ließen sich mit Hilfe des Elektronenmikroskops als verschiedene Entwicklungsstadien der Endodyogenie identifizieren (Abb. 38 bis 43, 86). Zu Beginn der Endodyogenie bildeten sich am Rande des Parasitennukleus zwei intranukleare Spindeln mit je zwei extranuklearen Zentriolen aus (Abb. 39 bis 42, 86). Fast gleichzeitig entstanden im Zytoplasma zwei neue Conoide mit Teilen der späteren Pellikula der Tochterzellen (Abb. 38, 39, 86). Bei der Teilung ging der Mutterzellkern völlig in den entstehenden Tochterzellkernen auf (Abb. 40, 41). In den Tochterzellen entstanden mehr oder weniger synchron die typischen Organellen wie Rhoptrien, Mikronemen, subpellikuläre Mikrotubuli usw. (Abb. 86). In entsprechenden Schnitten war zu erkennen, daß die Zoiten innerhalb der Epithelzellen in einer gemeinsamen parasitophoren Vakuole lagen (Abb. 37, 43). Die Endodyogeniestadien konnten an allen untersuchten Tagen p. i. nachgewiesen werden.

Zwischen 72 Stunden und 96 Stunden p. i. beherbergten die parasitophoren Vakuolen überwiegend Merozoiten, in denen die Endodyogenie unterschiedlich weit fortgeschritten war. Daneben waren 72 Stunden p. i. noch sehr vereinzelt, 96 Stunden p. i. dagegen vermehrt mehrkernige Schizonten vorhanden. Somit traten die frühesten Schizonten ne-

ben bzw. nach der Endodyogenie am dritten Tag p. i. auf. Vom vierten Tag p. i. an fanden sich zwei ungeschlechtliche Vermehrungsformen nebeneinander: die weiterhin stattfindende Endodygenie sowie Schizogonie mit großen und kleinen Merozoiten. Jeder Schizont bildete bis zu 16 Merozoiten aus. Der größere Schizontentyp hatte Merozoiten von etwa 16 × 4 μm, der kleinere von ca. 9,5 × 2,5 μm. Die Schizontenform mit den kleineren Merozoiten konnte erst nach dem Erscheinen der größeren beobachtet werden.

Der Tochterzellbildung der Schizonten waren mehrere Kernteilungen vorgeschaltet. Die Schizontenkerne konnten, wie es sich lichtmikroskopisch schon andeutete, dabei in ungerader Anzahl vorhanden sein (Abb. 47 bis 49). Zu Beginn der Kernteilung bildeten sich wie bei der Endodyogenie extranukleare Zentriolen und intranukleare Kernspindeln (Abb. 44). Bei der letzten Kernteilung wanderte das Karyoplasma eines jeden Nukleus dichotom den beiden Kernspindeln folgend in die zuvor gebildeten je zwei Merozoitenanlagen, die aus Conoid und innerer Pellikulaschicht bestanden (Abb. 45). Dabei streckte sich der Kern in Richtung der Spindeln und erschien im Schnitt bis zur völligen Aufteilung v- oder u-förmig. Nach Abschluß der Kernteilung schloß sich die neugebildete Pellikulaschicht bis auf den hinteren Polring. Im Inneren der neu entstandenen Tochterzellen hatten sich mittlerweile mit den subpellikulären Mikrotubuli, Mikronemen, Rhoptrien, tubulären Mitochondrien usw. die für diese Stadien üblichen zytoplasmatischen Differenzierungen herangebildet (Abb. 49). Nach Abschluß der Schizogonie konnte kein Schizontenrestkörper beobachtet werden (Abb. 50). Die Feinstruktur der größeren Merozoiten der ersten Schizontenform unterschied sich nicht von der Mikromorphologie der kleineren Merozoiten des zweiten kleineren Schizontentyps.

Die Ultrastruktur der beiden Merozoitenformen ist auf den Abbildungen 51, 53 und 85 dargestellt. Die für diese Gruppe von Parasiten typischen Organellen wiesen bei den Merozoiten von *I. suis* keine Besonderheiten auf. So wurden die Merozoiten ebenfalls von einer dreischichtigen Pellikula umgrenzt, die von etwa 22 subpellikulären Mikrotubuli im Zytoplasma des Merozoiten unterlagert war. Am apikalen Teil des Merozoiten befand sich das Conoid, in das die Ausführungsgänge mehrerer Rhoptrien, meist 4 bis 6, mündeten (Abb. 51, 53, 54) und das beim Eindringen in Zellen vorgestülpt wurde. Der innere Membrankomplex der Merozoitenpellikula war am Conoid und am hinteren Polring unterbrochen (Abb. 51). An den Mikroporen bildeten die beiden Membranen des inneren Membrankomplexes einen osmiophilen Versteifungszylinder um die Invaginationen der äußeren Pellikulamembran (Abb. 52). Im feingranulierten Zytoplasma der Merozoiten fanden sich als weitere Differenzierungen zahlreiche Mikronemen, Mitochondrien vom tubulä-

ren Typ, unkontrastierte Polysaccharidgrana, endoplasmatisches Retikulum, Golgi-Apparate und der von einer doppelten Kernmembran mit Kernporen begrenzte Nukleus (Abb. 51, 53, 54, 85).

Die Merozoiten der letzten Schizogonie drangen in Dünndarmzellen ein und entwickelten sich zu Mikro- oder Makrogamonten und schließlich zu Mikro- oder Makrogameten.

Etwa 120 Stunden p. i. bis 168 Stunden p. i. konnten neben den Endodyogeniestadien, großen und kleinen Merozoiten weiterhin verschieden große Schizonten beobachtet werden. Des weiteren traten junge Mikro- und Makrogamonten bzw. Mikro- und Makrogameten, Zygoten und junge Oozysten auf.

4.2.11 Makrogameten

Die jungen merozoiten-förmigen Makrogamonten reiften zu kugelförmigen Makrogameten heran (Abb. 88). Junge Makrogamonten (Abb. 55, 56) waren durch ihren relativ großen Kern mit dem sehr osmiophilen Nukleolus sowie der früh einsetzenden Ausbildung der Hüllbildungskörper gekennzeichnet. Die für die beweglichen Merozoiten typischen Organellen Conoide, Rhoptrien, Mikronemen, subpellikuläre Mikrotubuli usw. wurden schon früh rückgebildet. Nach außen wurde der Makrogamont von einer Doppelmembran begrenzt (Abb. 88), die typische Mikroporen ausgebildet hatte. Im Plasma des Makrogamonten erschien nach Reduktion der spezifischen Merozoitenorganellen ein rauhes endoplasmatisches Retikulum (Abb. 55, 56). Die Polysaccharidgrana, die zu Beginn der Umbildung völlig verschwunden waren, bildeten sich entlang des endoplasmatischen Retikulums neu (Abb. 55 bis 57). Für die Entwicklung der Makrogamonten zu Makrogameten war die Ausbildung und der Besitz von Hüllbildungskörpern charakteristisch. Diese Hüllbildungskörper waren nach der Befruchtung des Makrogameten maßgeblich an der Bildung der typischen mehrschichtigen Oozystenhülle beteiligt. Es traten Hüllbildungskörper vom Typ I und Typ II (WFB I und WFB II) auf (Abb. 59, 61). Die Hüllbildungskörper vom Typ II wurden zuerst angelegt. Die Hüllbildungskörper vom Typ I entstanden offenbar aus kleineren osmiophilen Grana (Abb. 57). Im Vergleich zu den Hüllbildungskörpern vom Typ II waren die Hüllbildungskörper vom Typ I erheblich osmiophiler; dabei konnte in die homogene osmiophile Grundsubstanz zentral noch elektronendichteres Material eingelagert sein (Abb. 57 bis 59). Die kugeligen bis ovoiden Hüllbildungskörper vom ersten Typ wurden von einer Membran begrenzt (Abb. 61). Der bis zu 6 μm große Zellkern, der einen osmiophilen Nukleolus (bis zu 2,5 μm Durchmesser) enthielt, wurde von einer typischen Kernmembran mit Kernporen begrenzt (Abb. 55 bis 57, 88).

Der Nukleus des reifen Makrogameten wurde von unregelmäßigen elektronenlichten Bezirken umgeben (Abb. 58 bis 61, 88). Die Hüllbildungskörper vom Typ I, die im reifen Makrogameten vornehmlich in den Randbezirken auftraten, wanderten dicht an die innere Membran des Gameten. Mit ihrem Verschwinden im Zytoplasma der Zygote korrespondierte ein Auftreten von osmiophilem Material unter der zweischichtigen ehemaligen Makrogametenhülle (Abb. 59 bis 61). Die Entwicklung der äußeren Oozystenwandschicht setzte nicht überall gleichzeitig ein, sondern begann an einzelnen Stellen (Abb. 59, 61). Im Plasma der Zygote sonderte sich parallel zur Sekretion der äußeren osmiophilen Schicht der entstehenden Oozystenwand eine Doppelmembran vom endoplasmatischen Retikulum ab, die diese homogene elektronendichte Schicht an der Peripherie der Zygote vom Plasma trennte. Ähnlich verlief auch die Bildung der inneren Oozystenwand aus den Hüllbildungskörpern des Typs II. Die Oozystenwand bestand aus zwei homogenen elektronendichten Schichten, die durch Membranen untereinander und vom Zytoplasma der jungen Oozyste getrennt wurden (Abb. 60, 61). Mit zunehmender Vervollständigung der Oozystenwand gingen neben dem Verlust der Hüllbildungskörper weitere Veränderungen der Oozyste einher. Im Plasma der Oozyste häuften sich jetzt Reservestoffe wie Polysaccharidgrana, die bis 1,2 μm im Querschnitt messen konnten (Abb. 60, 61). Auch konnte sich im Karyoplasma der Oozyste schon eine Kernteilungsanlage als Beginn der Sporulation ausgebildet haben (Abb. 60).

4.2.12 Mikrogameten

Die männlich determinierten Merozoiten entwickelten sich im Dünndarmepithel zu einem ovoiden bis kugeligen Mikrogamonten. Nach Eindringen in das Dünndarmepithel verloren solche Merozoiten die typischen Organellen und wuchsen unter steter Kernteilung heran. Die Kernteilungen führten letztlich bis zu ca. sechzig Nuklei. Dabei verkleinerten sich die Mikrogamontenkerne. Auch die Mikrogamonten befanden sich wie die anderen Entwicklungsstadien des intestinalen Zyklus intrazellulär in einer parasitophoren Vakuole. Je nach Entwicklungsstand des Mikrogamonten war die Wirtszelle auf einen schmalen Saum zusammengedrängt oder schon in völliger Degeneration begriffen. Intravakuoläre Falten waren nicht ausgebildet. Der Mikrogamont wurde nur von einer Elementarmembran umgeben.

Schon bei jungen Mikrogamonten ordneten sich die Kerne an der Peripherie des Gamonten an, wo sie noch weitere Zweiteilungen durchliefen (Abb. 62 bis 65). Eine typische Kernmembran mit Kernporen umgab das Karyoplasma, das diffus verteilte stark osmiophile Bereiche,

aber keinen distinkten Nukleolus aufwies (Abb. 62). Die Kernteilungen der Mikrogamontennuklei begannen mit der Ausbildung einer intranuklearen Spindelanlage, der außen je zwei Zentriolen anlagen (Abb. 62, 87). Im Verlauf der Teilung wanderten die beiden osmiophilen Spitzen der Spindeln, die stets innerhalb der Kernmembran blieben, unter leichter Streckung des Nukleus auseinander (Abb. 62, 87). Im Zytoplasma des heranreifenden Mikrogamonten befanden sich vornehmlich im zentralen Bereich endoplasmatisches Retikulum, zahlreiche Ribosomen, Mitochondrien, Polysaccharidgrana, opake Einschlüsse unterschiedlicher Größe und Vesikel. Nach Abschluß der Kernteilungen setzte eine neue Entwicklungsphase ein, die zur Ausbildung und Abschnürung der Mikrogamonten führte (Abb. 87).

Der zweite Entwicklungsabschnitt begann mit auffälligen Veränderungen des Karyoplasmas an den randständigen Nuklei. Die Kerne wanderten zentrifugal, streckten sich und bildeten so Vorwölbungen auf der Oberfläche des Mikrogamonten (Abb. 64, 65, 67 bis 70, 87). Das Karyoplasma gliederte sich dabei in einen sehr osmiophilen Teil und in einen elektronenlichten Bereich, der ins Zentrum des Gamonten wies. Der elektronenlichte Teil des Kernes blieb bis zur völligen Abschnürung des Mikrogameten mit dem osmiophilen Teil in Verbindung. Letzterer wurde zum Nukleus des Mikrogameten. Der elektronenlichte Teil verblieb als Restkern im Mikrogamontenrestkörper. Mit dem Mikrogametenkern gelangte ein Mitochondrium vom tubulären Typ in die Abschnürung (Abb. 64 bis 66, 87).

Schon zu Beginn dieses Prozesses hatten sich, ausgehend von den zentriolenähnlichen Strukturen, je Kern zwei Geißeln mit der typischen $9 \times 2 + 2$ Struktur und Mikrotubuli gebildet (Abb. 64, 67, 69 bis 71, 87). Die Ausbildung dieser Strukturen vollzog sich dicht unter der Oberfläche des Mikrogamonten (Abb. 64, 67). Die neugebildeten Geißeln lösten sich mit ihrem späteren Ende zuerst vom Zytoplasmarestkörper des ehemaligen Mikrogamonten. Bis zur vollständigen Abtrennung des Mikrogameten blieben die Geißeln über das Perforatorium bzw. über die beiden Basalapparate mit dem Mikrogamontenrestkörper verbunden (Abb. 87). Die Abschnürstelle des Mikrogameten war stets durch angelagertes osmiophiles Material verstärkt. Diese osmiophile „Manschette" (Abb. 65, 69, 87) bildete schließlich die letzte Verbindung des neuen Mikrogameten mit dem Mikrogamontenrestkörper (Abb. 87). Nach dem Abschnüren blieben die Mikrogameten noch bis zum Aufreißen der Wirtszelle zusammen. Im Mikrogamontenrestkörper verblieben die Restkerne, endoplasmatisches Retikulum, zahlreiche Polysaccharidgrana, Vakuolen, Vesikel usw. (Abb. 66).

Der Körper der abgeschnürten Mikrogameten war langgestreckt, komma- bis bananenförmig, etwa 3,5 bis 4,5 µm lang und maß an der breitesten Stelle bis 1 µm Durchmesser (Abb. 74, 89). Der Mikrogamet war von einer Elementarmembran umgeben, die vom Mikrogamonten stammt (s. o.). Der typisch bananenförmige Mikrogamet hatte einen langgestreckten Nukleus und besaß zwei Geißeln. Der Nukleus des Gameten war von einer Kernmembran umgeben, ohne daß ein perinukleärer Raum ausgebildet war. Das Karyoplasma war sehr osmiophil, fein granuliert und hatte nur ausnahmsweise kleine elektronenlichtere Bezirke. In der apikalen Hälfte des Mikrogameten lag ein einziges langgestrecktes Mitochondrium vom tubulären Typ in einer Einbuchtung des Nukleus. Mit seinem Vorderende reichte es bis dicht an die Basalapparate der Geißeln (Abb. 70, 75, 89). Die Basalapparate konnten aufgrund ihrer Osmiophilität nicht klar unterschieden werden. An der Spitze des Mikrogameten entsprangen proximal der Basalapparate die beiden Geißeln (Abb. 79). Lateral des Basalapparatkomplexes befand sich noch ein längliches, ebenfalls sehr osmiophiles Gebilde, das bis in die äußerste Spitze des Mikrogameten reichte. Diese osmiophile Struktur, die wie die Basalapparate wegen der Osmiophilie nicht weiter differenzierbar war, bildete mit diesen zusammen das sogenannte Perforatorium des Mikrogameten. Die beiden Geißeln, die etwa in gleicher Höhe ansetzten und kurz hinter den Basalapparaten frei beweglich waren, bestanden aus den üblichen neun Paar peripheren Mikrotubuli, die sich konzentrisch um die beiden im Zentrum liegenden Tubuli anordneten (Abb. 71, 89). Die Geißeln waren etwa gleich lang und maßen im Querschnitt etwa 0,3 µm (Abb. 71, 74). Zwischen der Membran des Mikrogameten und dem Mitochondrium waren etwa fünf einzelne Mikrotubuli vorhanden (Abb. 73, 89), die in den Schnitten bis fast zum hinteren Zellpol des Mikrogameten verfolgt werden konnten.

Entsprechend den vorgelegten licht- und elektronenoptischen Befunden ist der Entwicklungszyklus von *I. suis* auf Abbildung 84 schematisch zusammengefaßt.

4.3. Schadwirkung

Nichtinfizierte Ferkel, die mit 21 Tagen abgesetzt wurden, nahmen innerhalb von vier Wochen von durchschnittlich 5,1 auf 17,9 kg Lebendmasse zu. Hingegen bewirkte eine einmalige Inokulation von 10^5 *I. suis*-Oozysten am Tage des Absetzens eine Verringerung der Zunahme des Körpergewichtes um 2,5 kg gegenüber den nichtinfizierten Kontrollen und eine entsprechend verschlechterte Futteraufnahme und Futterverwertung. Die Einzelergebnisse können aus Tabelle 2 entnommen wer-

Tabelle 2

Vergleich der zootechnischen Leistungen von nichtinfizierten Ferkeln (I) und mit 10^5 *I. suis* Oozysten infizierten Ferkeln (II) im Verlauf von vier Wochen nach dem Absetzen mit 21 Tagen. Die Infektion erfolgte am Absetztag.

Zootechnische Parameter		Zeit: Tag p. i.	Zeit: Woche p. i.	I (nichtinfiziert) n = 10	II (infiziert) n = 10
Lebendmasse in kg		0		5,10 ± 1,12	5,12 ± 1,24
		14		8,88 ± 1,89	7,44 ± 2,08
		28		17,88 ± 2,26	15,37 ± 3,53
Tägliche Zunahme	absolut in g		1. - 2.	270 ± 63	166 ± 61
			3. - 4.	643 ± 56	566 ± 106
			1. - 4.	456 ± 42	366 ± 83
	relativ in %		1. - 2.	100	61,5
			3. - 4.	100	88,0
			1. - 4.	100	80,3
Futterverzehr pro Tier und Tag in g			1. - 2.	307 ± 73	247 ± 55
			3. - 4.	914 ± 99	789 ± 151
			1. - 4.	611 ± 79	518 ± 103
Futteraufwand	absolut		1. - 2.	1,14 ± 0,05	1,59 ± 0,44
			3. - 4.	1,42 ± 0,09	1,40 ± 0,10
			1. - 4.	1,33 ± 0,05	1,43 ± 0,15
	relativ in %		1. - 2.	100	139,5
			3. - 4.	100	98,6
			1. - 4.	100	107,5

den. Die Untersuchung von 108 Würfen zwei Wochen alter Saugferkel aus Nord-Bayern ergab einen Gesamtkokzidienbefall von 27 %. Davon erwiesen sich ca. 75 % als *I. suis*-Infektionen.

Die Dünndarmzotten nichtinfizierter Ferkel erschienen im REM-Bild im Bereich des Duodenum und Ileum als fingerförmige, im Jejunum als noppenartige Vorwölbungen (Abb. 82). In einem infizierten Ferkel veränderte sich die Morphologie der Dünndarmzotten. Sie erschienen infolge der Infektion gedrungener und waren fast durchweg beschädigt. Die parasitierten Zotten wurden vornehmlich distal verändert. Zahlreiche Laesionen bestimmten das Bild. Durch zerstörte und abgelöste Epithelzellen wurde partiell die Lamina propria sichtbar (Abb. 83). In angebrochenen Epithelzellen waren neben Schizonten weitere intrazelluläre Stadien erkennbar (Abb. 46).

5.0 Diskussion

5.1 Problematik der *Isospora*-Gruppe

Etwa bis zu Beginn der 70er Jahre galten die bei Hund, Katze, Mensch und Schwein mit dem Kot ausgeschiedenen Oozysten mit zwei Sporozysten und je vier Sporozoiten allgemein als *Isospora*-Arten. Keine der bis dahin beschriebenen *Isospora*-Arten war genauer untersucht worden. Bis Anfang 1980 stieg die Zahl der mit dieser Oozystenform bekannten Kokzidien allein bei Hund und Katze auf 30 Arten an (Rommel, 1978; Heydorn, 1979).

Die mit der genannten Oozystenform auftretenden Kokzidien können in zwei Gruppen aufgeteilt werden. Die Oozysten der einen Gruppe werden unsporuliert ausgeschieden und sporulieren erst im Freien. Bei der zweiten Gruppe werden sporulierte Oozysten, meist allerdings schon freie Sporozysten, mit den Fäzes ausgeschieden. In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, daß ein Teil dieser Oozysten Dauerstadien von zystenbildenden Sporozoen sind, deren Entwicklungsbiologie bis dahin völlig unbekannt war. Beschrieben waren die freien Dauerstadien, Oozysten bzw. Sporozysten sowie Zysten in Organen und Geweben von Tieren und dem Menschen, die man nicht in Verbindung mit den Dauerformen gebracht hat. So sind in der Regel sporuliert ausgeschiedene Oozysten bzw. Sporozysten Dauerformen verschiedener *Sarkosporidien*-Arten (Rommel et al., 1972; Rommel, 1978). Für diese Kokzidien ist ein Zwischenwirt obligat. Neben den *Sarkosporidien* gehören auch die *Frenkelien* zu dieser Gruppe, letztere kennt man nur von Eulen und Greifvögeln (Rommel, 1978).

Die Kokzidien, deren Oozysten unsporuliert ausgeschieden werden, lassen sich in zwei Untergruppen aufgliedern. Die Parasiten der einen Gruppe bilden Zysten und gehören nach neuesten Erkenntnissen zu den Gattungen *Toxoplasma, Hammondia* und *Besnoitia*. Die der anderen Gruppe bilden keine Zysten und werden allgemein der Gattung *Isospora* zugerechnet.

Die *Isospora*-Arten bei Hund und Katze haben in letzter Zeit eine Erweiterung erfahren durch die Neubeschreibung von *I. ohioensis, I. burrowsi* und *I. neorivolta* beim Hund (Pellerdy, 1974 b; Dubey, 1975 b; Trayser und Todd, 1978). Für die bis dahin obligat einwirtig geltenden *Isospora*-Arten *I. felis* und *I. rivolta* beschrieben Frenkel und Dubey (1972) erstmals einen fakultativ zweiwirtigen Zyklus mit Mäusen, Ratten und Hamstern als Zwischenwirten. Verschiedene Autoren ermittelten neben Nagern auch Hunde und Rinder als Zwischenwirte für *I. felis*

(Dubey, 1975 a; Gebelhoff 1978; Fayer und Frenkel, 1979; Heydorn, 1979; Wolters et al., 1980). Auch für die beim Hund bis dahin als obligat einwirtig angesehenen *Isospora*-Arten sind in mit *I. canis* infizierten Mäusen extraintestinale Stadien, die nach Verfüttern an den Hund zur Ausscheidung von *I. canis*-Oozysten führen, nachgewiesen (Dubey, 1975 a). Werden Mäuse, die 17 Tage zuvor *I. ohioensis*-Oozysten appliziert bekamen, an Hunde verfüttert, so scheiden solche Hunde Oozysten von *I. ohioensis* aus. Auch das Verfüttern von Milz und Mesenteriallymphknoten zuvor mit *I. ohioensis* infizierter Hunde führt zur Oozystenausscheidung dieser Art. Für die Epizootologie von *I. felis* und *I. rivolta* ist weiter von Bedeutung, daß sie nicht nur in den genannten Zwischenwirten, sondern auch in der Leber, Milz, Lunge, Muskulatur, Gehirn und Mesenteriallymphknoten der Katzen selbst nach Monaten noch vorhanden sind, wenn schon längst keine Oozysten mehr ausgeschieden werden (Dubey und Frenkel, 1972). Die Verfütterung der mit extraintestinalen Stadien befallenen Katzenorgane an Katzen führt ebenfalls zur Ausscheidung von Oozysten. Frenkel und Dubey (1972) sowie Frenkel (1974) vermuten eine Vermehrung der extraintestinalen Stadien durch Endodyogenie. Doch Mehlhorn und Markus (1976) sowie Dubey und Mehlhorn (1978) konnten keine Hinweise auf eine Vermehrung finden. Wenngleich die Frage, wie sich die extraintestinalen Stadien im Gewebe verhalten, noch nicht abschließend geklärt ist, so ist doch festzustellen, daß bei allen bisher daraufhin untersuchten Arten entweder histologisch und/oder biologisch die Existenz extraintestinaler Stadien nachgewiesen worden ist. Für *I. burrowsi* und *I. neorivolta* beim Hund z. B. stehen solche Untersuchungen noch aus. Auch bei einigen im Kanarienvogel und Sperling parasitierenden *Isospora*-Arten konnten inzwischen extraintestinale Stadien in den Vögeln selbst nachgewiesen werden (Box, 1975, 1977; Milde 1979).

Für die *Isospora*-Arten mit fakultativen Zwischenwirten wurde 1977 von Dubey der Gattungsname *Levineia* und von Frenkel der Gattungsname *Cystoisospora* vorgeschlagen. Allgemein durchgesetzt hat sich in der Literatur der Name *Cystoisospora*. Folgt man der Einteilung Frenkels und ordnet die *Isospora*-Arten mit extraintestinaler Entwicklung und fakultativen Zwischenwirten der Gattung *Cystoisospora* zu, so besteht die ehemalige Gattung *Isospora* nur noch aus den Arten, die von Endwirt zu Endwirt übertragen werden, ferner den Arten, die noch nicht ausführlich untersucht sind, wie z. B. *I. burrowsi*, *I. neorivolta* beim Hund und *I. belli* beim Menschen sowie alle bei Vögeln unsporuliert ausgeschiedenen isosporiden Oozysten (Box, 1977). Bei der Katze scheint es Arten mit ausschließlicher Übertragung von Endwirt zu Endwirt nicht zu geben (Heydorn, 1979; Dubey, 1979). Andererseits konnten bei *I. suis* weder biologisch — etwa durch Verfüttern von Organen zu-

vor mit Oozysten infizierter Mäuse oder Ferkel an Ferkel — noch histologisch oder durch Trypsinverdauung und Nativuntersuchungen Hinweise auf extraintestinale Stadien oder auf fakultative Übertragung durch Zwischenwirte gefunden werden. *I. suis* ist somit der Gattung *Isospora* zuzurechnen.

Die in der Gattung *Isospora* verbliebenen Arten stellen hinsichtlich der Entwicklung keine einheitliche Gruppe dar. So beschränkt sich z. B. die gesamte Entwicklung von *I. suis* auf den Dünndarm, während einige bei passerinen Vögeln beschriebene Arten neben einer intestinalen auch eine extraintestinale Vermehrungsphase aufweisen.

Für den Vergleich der endogenen Entwicklung von *I. suis* mit den anderen Arten der Gattungen *Cystoisospora* und *Isospora* kommen vier Arten beim Hund, zwei bei der Katze, drei bei Kanarienvogel und Spatz in Betracht. Allerdings kann der Vergleich nur anhand lichtmikroskopischer Beschreibungen durchgeführt werden, da außer bei *I. suis* keine elektronenmikroskopischen Befunde vorliegen. Die asexuelle Entwicklung von *I. suis* beginnt in den Dünndarmepithelien mit Endodyogenie. Bei *C. ohioensis*, *I. neorivolta* und *C. rivolta* wird von den Autoren ebenfalls als erste ungeschlechtliche Vermehrungsform Endodyogenie vermutet (Dubey, 1978; Dubey und Mahrt, 1978; Dubey, 1979). Auch bei *C. rivolta* soll nach Dubey (1979) der asexuelle Zyklus mit der Endodyogenie beginnen. Ein sicherer Nachweis dieser Annahme steht noch aus. Eine ebenfalls erst 1978 neu beschriebne Art des Hundes, *I. burrowsi*, soll zwei übliche Schizogoniegenerationen ausbilden (Trayser und Todd, 1978). Für *C. canis* beschreiben Lepp und Todd (1974) drei herkömmliche Schizontengenerationen. Auch für *C. felis* werden von Shah (1971) drei Schizontengenerationen unterschieden. Im Gegensatz zu den bei Hund und Katze vorkommenden *Cystoisospora*-Arten ist für *I. serini* und *I. lacazei* nachgewiesen, daß sich die extraintestinalen Stadien im Endwirt vermehren (Box, 1977; Milde, 1979). Für *I. lacazei* vom Spatz ist für den extraintestinalen Bereich nicht geklärt, ob eine oder mehrere Schizontengenerationen auftreten; im Darmepithel vermehrt sich *I. lacazei* durch drei Schizontengenerationen (Milde, 1979). *I. canaria* des Kanarienvogels hingegen vermehrt sich endogen ausschließlich intestinal durch drei Schizontengenerationen (Box, 1977). Anhand von elektronenmikroskopischen Bildern läßt sich bei *I. suis* eindeutig die Abfolge mehrerer Endodyogenien belegen. Einer Endodyogenie schließt sich eine weitere an, ohne daß die Parasiten die Epithelzelle verlassen haben. Das führt zu den zahlreichen parasitophoren Vakuolen, in denen vier Merozoiten vorhanden sind. Lichtmikroskopisch konnten zuerst die großen Schizonten gefunden werden. Ihnen folgen wahrscheinlich die kleinen Schizonten. Obwohl die Endodyogeniestadien selbst am sech-

sten Tag p. i. die Schizonten an Häufigkeit weit übertreffen, ist doch anzunehmen, daß die sich geschlechtlich differenzierenden Merozoiten von den Schizonten und nicht von den noch parallel vorkommenden Endodyogeniezoiten abzuleiten sind. Auch bei *I. neorivolta, C. ohioensis* und *C. rivolta* soll nach einer Endodyogeniephase ein kleiner Schizontentyp einem größeren nachfolgen (Dubey und Mahrt, 1978; Dubey, 1978, 1979). Somit scheint die intestinale Entwicklung von *I. suis* ähnlich zu verlaufen, wie sie aufgrund lichtmikroskopischer Untersuchungen für *I. neorivolta, C. ohioensis* und *C. rivolta* angenommen wird. Im Unterschied zu *C. ohioensis* und *C. rivolta* fehlen bei *I. suis* allerdings extraintestinale Stadien sowie fakultative Zwischenwirte. Ferner läuft der Zyklus von *I. suis* in den Epithelzellen des gesamten Dünndarms des Schweines ab, wohingegen die entsprechenden Stadien von *I. neorivolta* in der hinteren Hälfte des Dünndarms in der Lamina propria des Hundes zu finden sind. Untersuchungen auf Zwischenwirte stehen für *I. neorivolta* noch aus.

Die Entwicklungsgänge von *I. suis* und *I. canaria* stimmen insofern überein, als keine extraintestinalen Phasen und keine Zwischenwirte bekannt sind. Im Gegensatz zu *I. suis* findet bei *I. canaria* keine Endodyogenie statt, sondern die asexuelle Vermehrung erfolgt ausschließlich durch aufeinanderfolgende Schizontengenerationen (Box, 1977).

Da in neuester Zeit durch genauere Untersuchungen und Experimente aus ehedem einer Art oft zwei oder mehr Arten aufgeschlüsselt werden konnten, war das Auftreten von zwei Oozysten-Ausscheidungsmaxima bei *I. suis* verdächtig. Deshalb wurden die Oozysten des ersten Ausscheidungsschubes von denen des zweiten getrennt gewonnen. Doch führten Infektionsversuche mit separierten Oozysten zu bereits bekannter Präpatenz und Patenz. Auch traten wieder zwei Ausscheidungsmaxima auf, unabhängig, ob die Oozysten der ersten Ausscheidungswelle oder die der zweiten verwendet wurden.

5.2 Endogene Entwicklung von *I. suis*

Mit Hilfe der Elektronenmikroskopie konnte in dieser Arbeit eindeutig nachgewiesen werden, daß die ungeschlechtliche Vermehrung von *I. suis* im Dünndarm mit der Endodyogenie beginnt (Abb. 84). Andere elektronenmikroskopische Untersuchungen an *Cystoisospora*- und *Isospora*-Arten sind auf einzelne Stadien beschränkt, oder die beschriebenen Stadien sind nicht klar zuzuordnen, da natürliche Infektionen der Versuchstiere auch mit anderen Kokzidien nicht mit Sicherheit auszuschließen sind.

Von Roberts et al. (1972) wurden Sporozoiten von *C. canis* nach einer in vitro Exzystation beschrieben. Schon fünf Jahre zuvor hatten Schmidt et al. (1967) die Feinstruktur von Merozoiten eines mit einer Isospora-Art natürlich infizierten Geckos dargestellt. Pelster (1973) vergleicht die Makrogameten von *C. felis* und *C. rivolta* aus natürlich infizierten Katzen. Mehlhorn und Markus (1976) sowie Dubey und Mehlhorn (1978) untersuchten extraintestinale Stadien von *C. felis* und *C. rivolta* aus Mesenteriallymphknoten der Maus. Rodriguez et al. (1976) zeigten elektronenmikroskopische Aufnahmen von Entwicklungsstadien der Art *I. lacazei* (Merozoiten, Mikro- und Makrogamonten) aus dem Darm eines Stieglitz. Eine ausführlichere elektronenmikroskopische Dokumentation von Entwicklungsformen des *I. lacazei*-Komplexes des Spatzes gibt Milde (1979). Er konnte die einzelnen Stadien nicht eindeutig zuordnen, da nicht mit parasitenfreien Versuchstieren und klar definiertem Parasitenmaterial gearbeitet wurde.

5.2.1 Exzystation

Nach der oralen Aufnahme von Kokzidienoozysten ist für den weiteren Verlauf der Infektion entscheidend, daß die Sporozoiten adäquate Wirtszellen befallen können. Durch die sogenannte Exzystation gelangen die Sporozoiten aus der Oozyste bzw. Sporozyste. Der Vorgang der Exzystation ist trotz zahlreicher Untersuchungen noch weitgehend unklar (Long und Speer, 1977). Schon die unterschiedliche Morphologie der Oozysten einzelner Kokzidienarten läßt vermuten, daß die Exzystation nicht bei allen Arten in gleicher Weise abläuft. So gibt es Kokzidien, bei denen in der Regel nicht mehr die Oozysten, sondern die freien Sporozysten ausgeschieden werden, wobei die Sporozystenwand die vielfältigen Funktionen wahrnehmen muß, die bei den anderen Arten die Oozystenwand übernimmt (cf. Ryley, 1973). Soweit bekannt, handelt es sich dabei ausschließlich um Arten der *Sarkosporidien* und *Frenkelien*.

Bei einem Teil der *Eimerien* wird eine Mikropyle in der Oozystenwand gebildet. Die Auflösung der Mikropyle im Exzystationsverlauf ermöglicht den aus den Sporozysten freigewordenen Sporozoiten das Auswandern aus der Oozyste. Dabei muß bei verschiedenen *Eimerien* erst das Stiedakörperchen der Sporozyste aufgelöst sein. Das Stiedakörperchen ist eine der Mikropyle der Oozystenwand entsprechende Einrichtung der Sporozystenwand (Boch und Supperer, 1977). Andere Kokzidienarten besitzen keine Mikropyle in der Oozystenwand, sondern nur Sporozysten mit Stiedakörperchen. Dazu gehören z. B. die beim Kanarienvogel und Spatz beschriebenen *Isospora*-Arten sowie die bei Nagern

bekannten *Eimeria*-Arten. Für die in Vögeln parasitierenden Kokzidienarten wird eine mechanische Zerstörung der Oozystenwand angenommen (Doran und Farr, 1962). Bei vorhandenem Stiedakörper gelangen die Sporozoiten nach dessen Verdauung aus der Sporozyste heraus (cf. Speer und Duszynski, 1975; Duszynski und Speer 1976).

I. suis gehört wie *C. canis, C. felis* und *T. gondii* zu den Kokzidienarten, die weder eine Mikropyle noch einen Stiedakörper besitzen. Ähnlich wie bei den meisten anderen Kokzidienarten ist auch für diese Arten bislang nicht bekannt, wie in vivo die Oozystenwand aufgelöst wird. In vitro wird sie mechanisch zerstört. Die Sporozystenwände sind in der Regel durch Enzyme (z. B. Trypsin) unter Zusatz von Galle oder Gallensalze wie z. B. Na-taurocholat angreifbar. Bei *I. suis* besteht die Sporozystenwand aus mehreren Schichten, von denen die innerste die dickste ist und aus Platten besteht, die an den Nahtstellen zueinander wulstig verdickt sind. Eine ähnliche Struktur besitzt auch die Sporozystenwand von *C. canis* (Speer et al., 1973) und *T. gondii* (Christie et al., 1978). In geeigneten Verdauungslösungen öffnet sich die Sporozyste an den Berührungsstellen der Platten, entläßt die Sporozoiten und kollabiert. Neuerdings berichten Becker et al. (1979) für *S. suihominis* ebenfalls von praeformierten Bruchstellen der Sporozystenwand.

Über die Zusammensetzung der Sporozystenwände gibt es bislang keine Untersuchungen. Für die Oozystenwände von *E. tenella* liegen von Ryley (1973) und von Stotish et al. (1978) biochemische Untersuchungen vor, die allerdings etwas differieren. Während Ryley (1973) einen Aufbau aus ca. 70 % Proteinen, 30 % Lipiden und 1,5 % Kohlenhydraten annimmt, besteht die Oozystenwand nach umfangreichen Untersuchungen von Stotish et al. (1978) aus 67 % Proteinen, 14 % Lipiden und 19 % Kohlenhydraten. Stotish et al. (1978) geben für alle drei Stoffklassen detailierte Analysenwerte und Untersuchungsmethoden an. Nach ihren Vorstellungen ist die Oozystenwand von *E. tenella* aus einer Schicht langkettiger Alkohole, Phospholipide, Sterole, Triglyceride und einer weiteren Schicht aus über Disulfidbrücken verbundenen Glykoproteinen aufgebaut. Sowohl die Feinstruktur als auch die Biochemie der Oozysten- und Sporozystenwand, ihrer Differenzierungen wie Mikropyle und Stiedakörper, bedürfen weitere Untersuchungen.

5.2.2 Sporozoiten

Die Mikromorphologie der Sporozoiten, die von *I. suis* in der vorliegenden Arbeit licht- und elektronenmikroskopisch sowie unter Zuhilfenahme der Gefrierätztechnik untersucht wurde, ist der anderer Kokzi-

dien und verwandter Sporozoen sehr ähnlich (cf. Roberts und Hammond, 1970; Roberts et al., 1970 a; Milde, 1979; Becker et al., 1979). Bei *Cystoisospora*- und *Isospora*-Arten gibt es Untersuchungen zur Feinstruktur der Sporozoiten von *C. canis* (Roberts et al., 1972 a) sowie Sporozoiten des *I. lacazei*-Komplexes (Milde, 1979). Interessanterweise fand man bei extraintestinalen Stadien von *C. felis* und *C. ohioensis* aus der weißen Maus eine den *Isospora*- bzw. *Cystoisosopora*-Sporozoiten entsprechende Ultrastruktur (Mehlhorn und Markus, 1976; Dubey und Mehlhorn, 1978). Der Besitz von kristalloiden oder refraktilen Körpern, sonst für die Sporozoiten der *Isospora*-Arten ein charakteristisches Merkmal, konnte auch für die in der Maus gefundenen Stadien von *C. felis* und *C. ohioensis* nachgewiesen werden (Mehlhorn und Markus, 1976; Dubey und Mehlhorn, 1978). Die kristalloiden und refraktilen Körper unterscheiden sich offenbar in der Größe ihrer Substruktur. Während erstere aus runden, 30 - 50 nm großen, regelmäßig angeordneten Granula zusammengesetzt sind, erscheinen die refraktilen Körper wegen ihrer wesentlich kleineren Untereinheiten teilweise homogen. Die wenigen ultrahistochemischen Untersuchungen deuten auf eine Proteinnatur dieser Körper (Lit. cf. Roberts et al., 1970 a). Zusätzliche feinstrukturelle Untersuchungen vor allem unter Anwendung der Gefrierätztechnik und Ultrahistochemie sind zum besseren Verständnis dieser Gebilde erforderlich.

5.2.3 Merogonie (Schizogonie)

Nach der Exzystation gelangen die Sporozoiten von *I. suis* in die Epithelien des Dünndarms. Dort verlieren sie ihr typisches Aussehen, die refraktilen Körper verschwinden, und die Parasiten beginnen mit der asexuellen Vermehrung. In den vorliegenden Untersuchungen konnte für *I. suis* als erster Kokzidienart der eindeutige Nachweis erbracht werden, daß die Agamogonie im Dünndarm mit Endodyogenie beginnt. Als Endodyogenie bezeichneten Goldmann et al. (1958) bei *T. gondii* den asexuellen Vermehrungstyp, bei dem durch Zweiteilung innerhalb einer Mutterzelle zwei neue Tochterzellen entstehen. Ein Jahr früher hatten die gleichen Autoren diese intrazelluläre Vermehrungsform schon bei *Besnoitia jellisoni* gefunden aber noch nicht benannt. Genauere entwicklungsbiologische sowie elektronenmikroskopische Untersuchungen der letzten Jahre haben gezeigt, daß die Endodyogenie ein bei den Kokzidien verbreitete Vermehrungsform ist. Die Stelle, an der die Endodyogenie im Entwicklungszyklus auftritt, kann jedoch sehr unterschiedlich sein. Bei den Gattungen der zystenbildenden Kokzidien *Sarcocystis* und *Frenkelia* ist die Endodyogenie auf die heranwachsenden Zysten im Zwischenwirt beschränkt. Man bezeichnet

diese Stadien auch als Metrozyten. Nicht nur auf die Zysten beschränkt ist die Endodyogenie bei *Hammondia*, *Toxoplasma* und *Besnoitia* (Sheffield et al., 1976; Frenkel, 1977) Der Zystenbildung ist bei diesen Gattungen eine zusätzliche ungeschlechtliche Vermehrung durch Endodyogenie vorgeschaltet, so daß insgesamt mindestens zwei Endodyogenie-Phasen stattfinden. Auch bei der Gattung *Eimeria* scheint die Endodyogenie aufzutreten. Scholtyseck und Ratanavichien (1976) beschreiben die Endodyogenie für das in den Gallengängen des Kaninchens schmarotzende Kokzid *E. stiedai*.

Die vorliegenden Beschreibungen zeigen, daß die Endodyogenie als Teilungsvorgang bei den verschiedenen Arten im wesentlichen in gleicher Weise abläuft. Bei den Schizonten von *I. suis* handelt es sich in der Anfangsphase der Schizogonie vermutlich um noch bewegliche merozoitenähnliche Formen, wie sie auch für verschiedene *Eimeria* und *Cystoisospora*-Arten beschrieben wurden (cf. Roberts et al., 1970 b; Danforth und Hammond, 1972; Sampson und Hammond, 1972; Dubey, 1978, 1979).

Es treten zwei verschieden große Typen auf, die vermutlich zwei unterschiedliche Generationen repräsentieren, wobei der größere Typ wahrscheinlich zuerst vorkommt. Die bei Kokzidien vorkommenden Schizogonieformen kann man in zwei Gruppen aufteilen. Bei der ersten Gruppe scheint zuerst ein großer gelappter Nukleus heranzuwachsen, dessen Karyoplasma dann im Gefolge der Kernspindeln in die bei einem zweiten Schritt der asexuellen Vermehrung entstehenden Tochterzellanlagen bzw. Merozoitenanlagen einwandert. Erst vor kurzem stellte sich anhand mikromorphologischer Untersuchungen heraus, daß bei den *Sarkosporidien* und *Frenkelien* (Pacheco und Fayer, 1977; Heydorn und Mehlhorn, 1978; Senaud und Cerna, 1978; Göbel et al., 1978) die der Zystenbildung vorausgehenden Schizogonien, der als Endopolygonie benannten ungeschlechtlichen Vermehrung von *T. gondii* ähnlich sind (Sheffield, 1970; Piekarski et al., 1971; Ferguson et al., 1974). Bei der zweiten Schizogonieform, die auch bei *I. suis* vorkommt, bilden sich nach einer ersten Phase mitotischer Kernteilung, bei der sich die Kerne bei manchen Kokzidien-Arten peripher anordnen (cf. Dubremetz, 1975; Ferguson et al., 1976) pro Kern zwei Kernteilungsanlagen, und es entstehen zwei Merozoiten (cf. Roberts et al., 1970 b; Danforth und Hammond, 1972; Sampson und Hammond, 1972). Die Koppelung der letzten Kernteilung mit der Ausbildung der Merozoiten gleicht bei beiden Schizontenformen in dieser Phase durchaus der Endodyogenie.

Scholtyseck (1973) bezeichnet daher die Endodyogenie als ursprünglichen Vermehrungstyp, aus dem sich durch Vorschalten weiterer

Kernteilungen die Schizogonie entwickelt hat. Neben der vorliegenden Arbeit gibt es zwei Publikationen, die elektronenmikroskopisch Schizonten der Gattung *Isospora* darstellen. Es handelt sich einmal um Schizonten einer beim Gecko, *Gehyra variegata*, parasitierenden Isospora-Art, die von Schmidt et al. (1967) in einem natürlich infizierten Wirtstier gefunden wurden. Diese Schizonten bilden bis zu 29 Merozoiten und besitzen einen relativ großen Schizontenrestkörper. Die anderen elektronenoptischen Untersuchungen wurden an Schizonten des *I. lacazei*-Komplexes beim Spatz vorgenommen (Milde, 1979). Milde beschreibt drei verschiedene intestinale Schizontentypen. Zwei größere unterscheiden sich von einem kleineren durch den Besitz kristalloider Körper. Die beiden größeren Schizontenformen können voneinander durch die unterschiedliche Ausbildung und Formation dieser kristalloiden Körper unterschieden werden.

Während die Schizonten von *I. suis* meist zwischen sechs und acht Merozoiten (seltener bis zu sechzehn) ausbilden, sind bei *C. canis* bis zu 72, bei *C. felis* bis zu 70 und bei *I. serini* sowie *I. canaria* bis zu 129 respektive 40 Merozoiten beschrieben. Die Zahlen gelten für die Schizontengeneration, die die meisten Merozoiten hervorbringt (Lepp und Todd, 1974; Shah, 1971; Box, 1977). Zu den vier letztgenannten Kokzidien-Arten gibt es allerdings keine elektronenmikroskopischen Untersuchungen. Das gilt auch für *I. burrowsi* (Trayser und Todd, 1978). Die beiden Schizontengenerationen dieser Art haben im Durchschnitt fünf Merozoiten. Von *C. ohioensis* sind bislang Schizonten mit bis zu acht Merozoiten und für *C. rivolta* mit bis zu 30 Merozoiten beschrieben (Dubey, 1978, 1979). Für *I. neorivolta* vermuten Dubey und Mahrt (1978) nach einer Endodyogeniephase Schizonten mit bis zu 30 Merozoiten.

Innerhalb der Gattungen *Isospora* und *Cystoisospora* scheint nach den licht- und vereinzelten elektronenmikroskopischen Untersuchungen die intestinale Agamogonie sehr heterogen zu sein. Detaillierte entwicklungsbiologische Versuche als Basis für weitere ultrastrukturelle Nachforschungen sind nötig.

5.2.4 Gamogonie

Zwischen 96 und 120 Stunden p. i. differenzieren sich bei *I. suis* die ersten geschlechtlich determinierten Merozoiten zu Gamonten. Die männlich determinierten Merozoiten wachsen zu Mikrogamonten heran, an deren Peripherie dann die beweglichen Mikrogameten entstehen. Die weiblich bestimmten Merozoiten entwickeln sich parallel zu unbeweglichen Makrogamonten bzw. Makrogameten. Nach der Befruchtung

des Makrogameten durch einen Mikrogameten entsteht die Oozyste, die unsporuliert mit dem Kot ins Freie gelangt (Abb. 84).

Im Gegensatz zu anderen Arten, bei denen fakultative Zwischenwirte für die Verbreitung bedeutsam sein können, wird bei *I. suis* die Verbreitung ausschließlich durch sporulierte Oozysten sichergestellt. Bis auf die Untersuchungen von Biester und Murray (1934) gibt es keine Angaben zur Gamogonie von *I. suis*. Die Darlegungen dieser Autoren können nur unter Vorbehalten in Betracht gezogen werden, denn nach ihren Angaben zur Auswahl der Versuchstiere und ihren Befunden am 6., 9. und 11. Tag p. i. ist keinesfalls sicher, daß die Autoren wirklich Stadien von *I. suis* beschreiben und abbilden. So konnten sie am 6. Tag p. i. nur Merozoiten und Schizonten finden, die nicht weiter beschrieben wurden, aber keine Stadien der Gamogonie oder Oozysten, obwohl sie die Präpatenz mit 6 bis 8 Tagen angeben. Erst vom 9. Tag p. i. wird das Vorkommen von Makrogamonten und Oozysten berichtet.

Biesters und Murrays Angaben (1934) zur Präpatenz weichen von den in der vorliegenden Untersuchung gefundenen ab. Sie haben allerdings nur wenige Tiere untersucht, und ihre Versuchstiere waren aufgrund der Gewichtsangaben erheblich älter. Da sie ferner konventionell aufgezogene Schweine benutzten, kann eine kokzidienfreie Herkunft nicht angenommen werden. Die von Biester und Murray (1934) angegebenen Oozystengrößen unterscheiden sich nur geringfügig von den in der vorliegenden Arbeit für *I. suis* angegebenen Werten. Ähnliches gilt auch für die Angaben der wenigen anderen Autoren, die sich auf die Beschreibung der Oozysten beschränken. Möglicherweise sind die Unterschiede auf meßtechnische Unzulänglichkeiten zurückzuführen. Die unterschiedliche Präpatenz ergibt sich vielleicht aus Gründen einer früheren *I. suis*-Infektion. Wie man von anderen Kokzidien weiß, kann eine Teilimmunität zur Verlängerung der Präpatenz führen (Rommel, 1969).

Die in dieser Arbeit untersuchten Makrogamonten bzw. Makrogameten sowie die Mikrogamonten bzw. Mikrogameten sind den entsprechenden Stadien anderer Kokzidien, insbesondere den *Isospora*- und *Cystoisospora*-Arten, ähnlich. Welche der ungeschlechtlichen Stadien von *I. suis* sich zu Gamonten differenzieren, konnte nicht eindeutig geklärt werden, da zur Zeit der Gamontenbildung alle Stadien der ungeschlechtlichen Vermehrung vorhanden waren. Vermutlich entstehen sie aus den Merozoiten des kleineren Schizontentyps. Es gibt nur wenige elektronenmikroskopische Untersuchungen an Gamogoniestadien der Gattungen *Isospora* und *Cystoisospora*. Pelster (1973) vergleicht Makrogameten von *C. felis* und *C. rivolta* natürlich infizierter Katzen. Einen Mikrogamonten und einen Makrogameten von *I. lacazei* aus dem Stieg-

litz bilden Rodriguez et al. (1976) ab und beschreiben die Gamonten bzw. Gameten. Die Mikro- und Makrogametenentwicklung vom *I. lacazei*-Komplex des Spatzen wird von Milde (1979) dargestellt.

Bei den Mikrogamonten von *I. suis* entstehen durch sukzessive Teilung zahlreiche Kerne, die sich schon bald an der Peripherie des Gamonten anordnen. Wenn auch die Anzahl der aus einem Mikrogamonten hervorgehenden Mikrogameten bei den bisher untersuchten *Isospora-*, *Cystoisospora-* und *Eimeria*-Arten etc. erheblich größer sein kann, so entspricht die Feinstruktur der Mikrogamogoniestadien von *I. suis* im wesentlichen den Repräsentanten der genannten Gattungen einschließlich *T. gondii* (Pelster und Piekarski, 1971; Mehlhorn, 1972 b, c; Scholtyseck et al., 1972, 1974; Rodriguez et al., 1976; Speer und Danforth, 1976; Scholtyseck et al., 1977; Milde, 1979). Bei verschiedenen *Eimeria-* und *Cystoisospora*-Arten wie *E. magna, E. maxima, E. intestinalis, E. auburnensis, C. felis* und *C. canis* bilden die Mikrogamonten tiefe Invaginationen aus, die zu einer erheblichen Oberflächenvergrößerung des Gamonten führen (Shah, 1971; Mehlhorn, 1972 c; Scholtyseck et al., 1972; Lepp und Todd, 1974; Speer und Danforth, 1976). Die stark vergrößerte Mikrogamontenoberfläche ermöglicht an der Peripherie des Gamonten eine erhöhte Produktion an Mikrogameten. Die Mikrogametenentwicklung verläuft bei *I. suis* ohne die Ausbildung derartiger Invaginationen in zwei Abschnitten wie bei den Gattungen *Eimeria, Toxoplasma, Cystoisospora* und *Isospora*. Der Wachstums- und Kernteilungsphase folgt die eigentliche Differenzierung der Mikrogameten im Verlauf eines Abschnürungsvorganges.

Bei den genannten Arten einschließlich *I. suis* entstehen durch multiple Kernteilungen die zahlreichen Nuklei. Dies geschieht vermutlich, wie es für *E. maxima* (Mehlhorn, 1972 c) und *E. auburnensis* (Hammond et al., 1969) nachgewiesen wurde, durch Zweiteilung.

Bei den *Sarkosporidien* finden hingegen in der ersten Phase der Mikrogametenbildung keine direkten Kernteilungen statt. Vielmehr erfolgt zunächst eine auffällige Vermehrung des Kernmaterials. Dabei wird der Nukleus vergleichsweise recht groß und lappenförmig zerklüftet. An den Ausläufern des so veränderten Kernes bilden sich in einer zweiten Phase simultan zahlreiche Mikrogameten (Vetterling et al., 1973; Mehlhorn und Heydorn, 1978, 1979; Becker et al., 1979). Bei *I. suis* teilt sich das Karyoplasma in einen elektronendichten Part, der zum Mikrogametenkern wird, und einen elektronenlichten Restkern, der im Mikrogamontenrestkörper verbleibt. Dieser Bildungsmodus ist auch von *I. lacazei*, verschiedenen *Eimerien*, *Sarkosporidien* sowie *T. gondii* beschrieben worden (Colley, 1967; Hammond et al., 1969; McLaren, 1969; Snivirevskaya, 1969; Pelster und Piekarski, 1971; Scholtyseck et al.,

1972, 1973; Vetterling et al., 1973; Speer und Danforth, 1976; Becker et al., 1979; Milde 1979). Die zweigeißeligen Mikrogameten von *I. suis* schnüren sich wie bei anderen Arten an der Peripherie des Mikrogamonten ab. Die Mikrogameten von *I. suis* gleichen den entsprechenden Stadien anderer *Isospora-*, *Cystoisospora-* und *Eimeria*-Arten sowie auch den Mikrogameten der zystenbildenden Kokzidien (Mehlhorn, 1972 b, c; Vetterling et al., 1973; Ferguson et al., 1974; Becker et al., 1979; Milde, 1979).

Die Makrogamonten von *I. suis*, die aus weiblich determinierten Merozoiten unter Verlust der charakteristischen Merozoitenorganellen in den Epithelzellen heranwachsen, gleichen ebenso wie die Makrogameten im Grundbauprinzip denen anderer *Isospora-*, *Eimeria-* und *Sarkosporidien*-Arten sowie *T. gondii* (Pelster, 1971; Scholtyseck et al., 1971; Mehlhorn, 1972 a; Vetterling et al., 1973; Ferguson et al., 1975; Wheat et al., 1976; Ferguson et al., 1977; Becker et al., 1979; Milde, 1979). Modifizierungen gleichartiger Strukturen treten jedoch bei einzelnen Organquellen auf. Die Unterschiede liegen in der Gestaltung der parasitophoren Vakuole, der Größe der Makrogameten, der Art der Zellbegrenzung, der Form und Größe der Hüllbildungskörper, der Größe und Häufigkeit von Polysaccharidgrana sowie dem Ausmaß und der Anzahl der elektronenlichten Spalträume (Scholtyseck et al., 1971; Vetterling et al., 1973; Rodriguez et al., 1976; Wheat et al., 1976; Box, 1977; Ferguson et al., 1977; Becker et al., 1979). Nach der Befruchtung des sessilen Makrogameten durch einen beweglichen Mikrogameten entstehen aus den Hüllbildungskörpern des Makrogameten bzw. der Zygote die Oozystenwände. Die Ausbildung und die Ultrastruktur der Oozystenwände von *I. suis* zeigen im Vergleich zu denen der *Eimeria-* und *Isospora*-Arten keine prinzipiellen Unterschiede.

5.3 Schadwirkung

Nach der Exzystation dringen die Sporozoiten aktiv mit dem Conoid voran in die Epithelzellen des Dünndarms ein. Nach Beobachtungen an Zellkulturen bleiben die Sporozoiten in der Regel nicht in der zuerst befallenen Epithelzelle. Sie penetrieren vielmehr zahlreiche Zellen, bevor sie sich einnisten und ihren Sporozoitenhabitus verlieren (Speer und Hammond, 1971; Fayer, 1970, 1972). Durch das sehr große Reproduktionspotential der Kokzidien erfolgt im Verlauf der weiteren Entwicklung über Endodyogenie-, Schizogonie- und Gamogonie-Stadien die Beschädigung und Zerstörung zahlreicher Epithelzellen.

Besonders deutlich sind diese Folgen der Infektion im Rasterelektronenmikroskop darstellbar. Die Zotten erscheinen zudem gedrungener,

d. h. kürzer und breiter als die der nichtinfizierten Ferkel. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen über die Beschädigung des Darms durch Kokzidieninfektionen gibt es bislang nur bei einzelnen *Eimeria*-Arten des Huhns. Diese Befunde korrespondieren mit Veränderungen, die nach experimentellen Infektionen mit *I. suis* in der vorliegenden Arbeit beschrieben wurden.

Während in unbefallenen Kontrolltieren die Darmzotten von Epithelzellen mit apikalem Mikrovillibesatz überzogen sind, werden die Darmzotten infizierter Tiere insbesondere an den Spitzen häufig nur noch von der Lamina propria begrenzt, nachdem infolge der Infektionen die Epithelzellen zerstört und abgestoßen wurden (Witlock et al., 1975 a, b; Witlock und Ruff, 1977; Witlock et al., 1977; Bemrick und Hammer, 1978).

Die Art und Weise, der Grad und Ort der Zerstörung bzw. Beschädigung der Mukosa sind abhängig von Infektionsdosis und Kokzidienart. Das Ausmaß der Beschädigung der Zotten und der Epithelzellen des Dünndarms durch eine *I. suis*-Infektion konnte mit dem Lichtmikroskop, TEM sowie SEM beobachtet werden. Die Befunde, die sich entsprechen bzw. ergänzen, ergaben folgendes Bild: In licht- und elektronenmikroskopischen Schnitten gleicht diese Region einer netzartigen Wabenstruktur, da an vielen Zotten die Membranen und Reste der Epithelzellen noch vorhanden sind, aber durch die Parasiteninvasion Zellkerne und Zytoplasma weitgehend zerstört wurden. Zu ähnlichen Befunden kamen auch Biester und Murray (1934). Hinsichtlich des wirtschaftlichen Schadens fanden Boch und Wiesenhütter (1963) nach Mischinfektionen mit *Eimeria*-Oozysten (*E. debliecki* 80 %, *E. scabra* 15 %, *E. polita* 5 %) beachtliche Gewichtsdifferenzen zwischen infizierten Tieren und negativen Kontrolltieren. Beginnend mit der zweiten Lebenswoche waren die Ferkel mit täglich steigenden Oozystenmengen max. 37 Tage lang infiziert worden. Abhängig von Dosis, Infektionsdauer und Versuchslänge ergaben sich Gewichtsminderungen, die beispielsweise nach 80 Tagen bis zu 6 kg betrugen. Bei einmaligen Infektionen mit *E. scabra* und *E. polita* sowie mit Mischinfektionen beider Arten stellte Rommel (1970) ebenfalls eine geringere Gewichtszunahme bei den infizierten Versuchstieren gegenüber den Kontrolltieren fest. Für die verminderte Gewichtszunahme, die drei Wochen p. i. bis zu 2,5 kg betrug, war neben der Infektionsdosis das Alter der infizierten Tiere sowie die Kokzidienart von Bedeutung. Untersuchungen von Boch und Wiesenhütter (1963), O'Neill und Parfitt (1976), Sangster et al. (1976, 1978), Indermühle (1978) und Stuart et al. (1978) zeigten deutlich, daß schon junge Saugferkel mit Kokzidien infiziert sein können und gerade *I. suis*, bislang wenig beachtet, bei besonders jungen Fer-

keln relativ häufig vorkommen kann. Bei eigenen Untersuchungen an 108 Würfen zwei Wochen alter Ferkel (insgesamt etwa 1000 Tiere) aus Nordbayern konnte ein Befall mit Kokzidien bei 27 % der untersuchten Würfe festgestellt werden. *I. suis* rangierte mit ca. 75 % der Infektionen weit vor verschiedenen *Eimeria*-Arten. Die rasche Ausbreitung von *I. suis* in einem Stall wird durch die vergleichsweise kurze Präpatenz und Sporulationsdauer dieser Art begünstigt. Bereits ein infiziertes Ferkel genügt, um alle Wurfgeschwister anzustecken.

Eigene Routineuntersuchungen in einem Bestand mit Frühabsatztechnik über einen Zeitraum von zwei Jahren zeigten, daß sich regelmäßig *I. suis*-Infektionswellen aufschaukelten. Bei Ferkeln, die zum Zeitpunkt des Absetzens mit *I. suis* infiziert wurden, war 4 Wochen p. i. eine Gewichtsminderung von insgesamt 14 % gegenüber negativen Kontrolltieren zu verzeichnen, was einem Gewichtsunterschied von 2,5 kg entspricht. Die tägliche Gewichtszunahme war insbesondere innerhalb der ersten 14 Tage p. i. drastisch verringert und lag fast 40 % unter der der Kontrolltiere.

Die mit Kokzidien infizierten Ferkel bekommen heftige Durchfälle verbunden mit abdominalen Schmerzen und nehmen weniger Futter auf. Des weiteren ist durch die zerstörten Epithelien im Dünndarm die Resorption vermindert bzw. die Verdauung gestört, so daß bei relativ hohem Futterverzehr bzw. -aufwand die tägliche Zunahme in dieser Zeit besonders niedrig ist. In der 3. und 4. Woche p. i. klingen die Symptome der Infektion ab und der Futteraufwand normalisiert sich. Interessant wäre zu untersuchen, ob die infizierten Tiere die nichtinfizierten Kontrollen noch vor Ende der Mast einholen können und wie groß der Mehraufwand an Futter für die infizierten Schweine ist.

6.0 Zusammenfassung

Mit einem experimentell isolierten Stamm von *I. suis* konnte die Entwicklungsbiologie dieses Schweinekokzids erstmals untersucht und beschrieben werden. Die Entwicklungsstadien des ausschließlich in der Dünndarmmukosa gefundenen Parasiten wurde mit verschiedenen Licht- und elektronenmikroskopischen Methoden untersucht. Die Sporozoiten dringen in die Epithelzellen ein, und 24 Stunden p. i. sind die ersten Teilungsstadien vornehmlich im ersten Drittel des Dünndarms vorhanden. Die ungeschlechtliche Vermehrung beginnt mit Endodyogenie. Zwischen 72 und 168 Stunden p. i. sind neben Endodygeniestadien zwei Schizontengenerationen zu finden, die sich in der Größe der gebildeten Merozoiten unterscheiden. Nach 120 Stunden p. i. sind alle Stadien der Gamogonie vorhanden. Mit zunehmender Infektionsdauer verlagert sich der Schwerpunkt des Befalls vom vorderen Drittel in die zweite Hälfte des Dünndarms. Bei jungen Saugferkeln verläuft die Infektion mit *I. suis* heftiger als bei älteren Ferkeln und kann zu Todesfällen führen.

Die zootechnischen Leistungen mit 10^5 *I. suis*-Oozysten infizierter Absatzferkel sind nach vier Wochen signifikant schlechter als die nicht infizierter Kontrolltiere. Die Präpatenz beträgt 5,5 Tage, die Patenzzeit 10 bis 18 Tage, mit zwei Maxima der Oozystenausscheidung. Ein Ausscheidungsmaximum liegt zwischen dem ersten und dritten Tag der Patenz, das zweite ist kleiner und liegt zwischen dem 7. und 9. Tag der Patenz. Die sporulierte Oozyste ist ellipsiod, 19,2 bis 24,0 µm lang (21,5 ± 1,1 µm) und 17,6 bis 20,8 µm breit (18,8 ± 1,0 µm). Die Sporozysten sind 14,4 bis 16,0 µm lang (15,5 ± 0,8 µm) und 9,6 bis 12,8 µm breit (11,0 ± 1,0 µm). Die Sporulationsdauer der unsporuliert ausgeschiedenen Oozysten beträgt 24 - 48 Stunden bei 25° C. Die Oozysten können mehr als 2 Jahre infektionstüchtig bleiben.

Epidemiologische Untersuchungen an 108 Würfen mit etwa 1000 zwei Wochen alten Saugferkeln ergaben, daß ca. 75 % der mit Kokzidien infizierten Würfe mit *I. suis* infiziert waren.

Eine Reinfektion mit 10^6 *I. suis*-Oozysten sechs Wochen nach der ersten Infektion mit 10^5 *I. suis*-Oozysten führte zu keiner erneuten Oozystenausscheidung.

Mit Hilfe der Elektronenmikroskopie konnte eindeutig nachgewiesen werden, daß bei *I. suis* die asexuelle Vermehrung mit der Endodyogenie beginnt. Zum erstenmal wurde der gesamte Entwicklungsgang einer *Isospora*-Art vergleichend licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Die Mikromorphologie der einzelnen Stadien ist den entsprechenden Stadien bislang untersuchter *Isospora*- und *Cystoisospora*-Arten vergleichbar. Deutlicher sind die Unterschiede zu den zystenbildenden Kokzidien, die ebenfalls zu den isosporiden Kokzidien gezählt wurden.

Extraintestinale Entwicklungsstadien konnten weder histologisch noch im Tierversuch nachgewiesen werden.

Summary

The development of *Isospora suis* Biester and Murray 1934 in pigs

The developmental biology of the porcine coccid *I. suis* was investigated in an experimentally isolated strain and described for the first time. The developmental stages of the parasite which are found only in the mucosa of the small intestine were investigated using several light and electron microscopical methods.

The sporozoites enter the epithelial cells and after 24 hours the first stages can be found in the anterior third of the small intestine. Asexual reproduction begins by endodyogony. 72 to 168 hours p. i. endodyogonal stages and also two generations of schizonts can be observed, differing from one another in the size of the merozoites they form. 120 hours p. i. all stages of gamogony are present. As the duration of the disease advances, the main centre of infection is transferred from the anterior third to the posterior half of the small intestine. In young piglets the infection with *I. suis* is more severe than in older piglets and may even be lethal.

After 4 weeks the zootechnical productivity of weaned piglets infected with 10^5 *I. suis* oocysts was significantly reduced in comparison to noninfected controls. Prepatency lasted for 5,5 days, while the patent infection was present for 10 to 18 days, during which there were two peaks of oocyst

excretion. The higher peak is found on the first to third day of patency, while the second peak appears on the 7th to 9th day of patency. Sporulated oocysts have an elliptical form, a length of 19.2 to 24.0 µm (21.5 ± 1,1 µm) and a width of 17.6 to 20.8 µm (18.8 µm ± 1.0 µm). The sporocysts are 14.4 to 16.0 µm long (15.5 ± 0.8 µm) and 9.6 to 12.8 µm wide (11.0 ± 1.0 µm). Oocysts which are excreted before sporulation take about 24 to 48 hours to sporulate at 25° C. Oocysts remain infectious for more than 2 years.

An epidemiological survey on 108 litters containing about 1000 two week old piglets showed that about 75 % of the litters infected with coccidia had *I. suis*.

Reinfection with 10^6 *I. suis* oocysts 6 weeks after the first infection with 10^5 *I. suis* oocysts did not cause a renewed excretion of oocysts.

With the aid of electron microscopy it was proved that in *I. suis* asexual reproduction begins by endodyogony. For the first time the complete developmental course of a species of *Isospora* was investigated by comparing light and electron microscopy.

The micro-morphology of the various stages corresponds to the appropriate forms of *Isospora* and *Cystoisospora* species already described. There are more pronounced differences when compared to cyst producing coccidia which are also incorporated with the isosporid coccidia.

Extaintestinal developmental stages were not demonstrable either by histological methods or in animal experiments.

7.0 Literaturverzeichnis

Becker, B., H. Mehlhorn and A. O. Heydorn (1979): Light and electron microscopic studies on gamogony and sporogony of 5 sarcocystis species in vivo and in tissue cultures. Zentbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A *244* 394 - 404.

Bemrick, W. J., and R. F. Hammer (1978): Scanning electron microscopy of damage to the cecal mucosae of chickens infected with *Eimeria tenella*. Avian Dis. *22*, 86 - 94.

Biester, H. E. (1934): *Isospora suis*, n. sp. from the pig. In: Becker, E. R.: Coccidia and coccidiosis of domesticated, game and laboratory animals and of man, 106 - 107. Collegiate Press, Inc., Ames, Iowa.

— and C. Murray (1934): Studies in infectious enteritis of swine. VIII. *Isospora suis* n. sp. in swine. J. Am. vet. med Ass. *85*, 207 - 219.

Boch, J., E. Pezenburg und V. Rosenfeld (1961): Ein Beitrag zur Kenntnis der Kokzidien der Schweine. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. *74*, 449 - 451.

— und E. Wiesenhütter (1963): Über einzelne Stadien der endogenen Entwicklung des Schweinekokzids *Eimeria debliecki*, Douwes 1921. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. *76*, 236 - 238.

— und R. Supperer (1977): Veterinärmedizinische Parasitologie. 2. Aufl., Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg.

Box, E. D. (1975): Exogenous stages of *Isospora serini* (Aragão) and *Isospora canaria* sp. n. in the canary (*Serinus canarius*, Linnaeus). J. Protozool. *22*, 165 - 169.

— (1977): Life cycles of two *Isospora* species in the canary, *Serinus canarius*, Linnaeus. J. Protozool. *24*, 57 - 67.

Cauchemez, L. (1921): Frequence de la coccidie du porc *(Eimeria brumpti* n. sp.) en France. Bull. soc. path. exot. *14*, 645 - 648.

Centurier, H. (1970): Der Lebenszyklus des Schweinekokzids *Eimeria polita* (Pellerdy, 1949). Vet.-med. Diss., FU Berlin.

Christie, E., P. W. Pappas and J. P. Dubey (1978): Ultrastructure of excystment of *Toxoplasma gondii* oocysts. J. Protozool. *25*, 438 - 443.

Cooley, F. (1967): Fine structure of microgametocytes and macrogametocytes of *Eimeria nieschulzi*. J. Protozool. *14*, 663 - 674.

Danforth, H. D., and D. M. Hammond (1972): Stages of merogony in multinucleate merozoites of *Eimeria magna*, Perard 1925. J. Protozool. *19*, 454 - 457.

Doran, D. J., and M. M. Farr (1962): Excystation of the poultry coccidium, Eimeria acervulina. J. Protozool. *9*, 154 - 161.

Douwes J. B. (1921): Bijdrage tot de kennis van enkele Darmprotozoen der Huisdieren in het bijzonder bij Schaap en Varken. Inaug. Diss., Utrecht.

Dubey, J. P. (1975): Experimental *Isospora canis* and *Isospora felis* infection in mice, cats, and dogs. J. Protozool. *22*, 416 - 417.

— (1975): *Isospora ohioensis* sp. n. proposed for *I. rivolta* in the dog. J. Parasit. *61*, 462 - 465.

— (1977): *Toxoplasma, Hammondia, Besnoitia, Sarcocystis*, and other tissue cyst-forming Coccidia of man and animals. In: Kreier, J. P.: Parasitic protozoa, III, 101 - 219, Academic Press, New York, London.

— (1978): Life cycle of *Isospora ohioensis* in dogs. Parasitol. *77*, 1 - 11.

— (1979): Life cycle of *Isospora rivolta* (Grassi, 1879) in cats and mice. J. Protozool. *26*, 433 - 443.

— and J. K. Frenkel (1972): Extra-intestinal stages of *Isospora felis* and *I. rivolta* (Protozoa: Eimeriidae) in cats. J. Protozool. *19*, 89 - 92.

— and R. H. Streitel (1976): *Isospora felis* and *I. rivolta* infections in cats induced by mouse tissue or oocysts. Br. vet. J. *132*, 649 - 651.

— and J. L. Mahrt (1978): *Isospora neorivolta* sp. n. from the domestic dog. J. Parasit. *64*, 1067 - 1073.

— and H. Mehlhorn (1978): Extraintestinal stages of *Isospora ohioensis* from dogs in mice. J. Parasit. *64*, 689 - 695.

Dubremetz, J. F. (1975): La Genese des merozoites chez la Coccidie *Eimeria* necatrix. Étude ultrastructurale. J. Protozool. *22*, 71 - 84.

Duszynski, D. W., and C. A. Speer (1976): Excystation of *Isospora arctopitheci* Rodhain, 1933 with notes on a similar process in *Isospora bigemina* (Stiles, 1891), Lühe, 1906 Z. Parasitenkd. *48*, 191 - 197.

Erber, M. (1977): Möglichkeiten des Nachweises und der Differenzierung von zwei Sarcocystis-Arten des Schweines. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. *90*, 480 - 482.

Fayer, R. (1970): *Sarcocystis:* Development in cultured avian and mammalian cells. Science *168*, 1104 - 1105.

— (1972): Gametogony of *Sarcocystis* sp. in cell cultures. Science *175*, 67 - 67.

— and J. K. Frenkel (1979): Comparative infectivity for calves of oocysts of feline Coccidia: *Besnoitia, Hammondia, Cystoisospora, Sarcocystis*, and *Toxoplasma*. J. Parasit. *65*, 756 - 762, 1979.

Ferguson, D. J. P., W. M. Hutchison, J. F. Dunachie and J. Chr. Siim (1974): Ultrastructural study of early stages of asexual multiplications and microgametogony of *Toxoplasma gondii* in the small intestine of the cat. Acta path. microbiol. scand. Sect. B., *82*, 167 - 181.

— W. M. Hutchison and J. Chr. Siim (1975): The Ultrastructural development of the macrogamete and formation of the oocyst wall of *Toxoplasma gondii*. Acta path. microbiol. scand Sect. B., *83*, 491 - 505.

— A. Birch-Andersen, W. M. Hutchison and J. Chr. Siim (1976): Ultrastructural studies on the endogenous development of *Eimeria brunetti*. I. Schizogony. Acta path. microbiol. scand. Sect. B., *84*, 401 - 413.

— A. Birch-Andersen, W. M. Hutchison and J. Chr. Siim (1977): Ultrastructural studies on the endogenous development of *Eimeria brunetti*. III. Macrogametogony and the macrogamete. Acta path. microbiol. scand. Sect. B. *85*, 78 - 88.

Fitzgerald, P. R. (1972): The economics of bovine coccidiosis. Feedstuffs, Minneap. *44*, 28 - 29.

Frenkel, J. K. (1974): Advances in the biology of Sporozoa. Z. Parasitenkde *45*, 125 - 162.

— (1977): *Besnoitia wallacei* of cats and rodents: With a reclassification of other cyst-forming isosporoid Coccidia. J. Parasit. *63*, 611 - 628.

— and J. P. Dubey (1972): Rodents as vectors for feline Coccidia *Isospora felis* and *Isospora rivolta*. J. infect. Dis. *125*, 69 - 72.

— J. P. Dubey and N. L. Miller (1970): Fecal forms of *Toxoplasma gondii* (Protozoa): Their separation from eggs of the nematode *Toxocara cati*. Science *167*, 893 - 896.

Gebelhoff, E. (1978): Das Rind als Zwischenwirt von *Isospora felis*. 8. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Parasitologie vom 15. - 18. März 1978 in Freiburg/Br., Referat Nr. 69.

Göbel, E., M. Rommel und H. E. Krampitz (1978): Ultrastrukturelle Untersuchungen zur ungeschlechtlichen Vermehrung von *Frenkelia* in der Leber der Rötelmaus. Z. Parasitenkde *55*, 29 - 42.

Goldmann M., R. K. Carver and A. J. Sulzer (1958): Reproduction of *Toxoplasma gondii* by internal budding. J. Parasit. *44*, 161 - 171.

Hammond, D. M., E. Scholtyseck and B. Chobotar (1969): Fine structural study of the microgametogenesis of *Eimeria auburnensis*. Z. Parasitenkde *33*, 65 - 84.

Heydorn, A. O. (1970): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. IX. Entwicklungszyklus von *Sarcocystis suihominis* n. spec. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. *90*, 218 - 224.

— (1979): Katzen als Überträger zystenbildender Kokzidien. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. *92*, 214 - 220.

— and H. Mehlhorn (1978): Light and electron microscopic studies on *Sarcocystis suihominis*. 2. The schizogony preceding cyst formation. Zentbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A, *240*, 123 - 134.

— und M. Rommel (1972 a): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. II. Hund und Katze als Überträger der Sarkosporidien des Rindes. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. *85*, 121 - 123.

— und M. Rommel (1972 b): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. IV. Entwicklungsstadien von *S. fusiformis* in der Dünndarmschleimhaut der Katze. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. *85*, 333 - 336.

— und V. Ipczynski (1978): Zur Schizogonie von *Sarcocystis suihominis* im Schwein. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. *91*, 154 - 155.

— und F.-R. Matuschka (1980): Zur Schizogonie von *Sarcocystis suicanis* im Schwein, in Vorbereitung.

Indermühle, N. A. (1978): Endoparasitenbefall beim Schwein. Schweizer Arch. Tierheilk. *120*, 513 - 525.

Krediet, G. (1921): Over het vorrkommen van protozoen-cysten on ontwikk elingsvormen van coccidien in den darm van mensch en enkele dieren. Tijdschr. vergelijk. Geneesk. Gezond *6*, 95 - 154.

Kutzer, E. (1960): Über die Kokzidien des Schweins in Österreich. Z. Parasitenkde *19*, 541 - 547.

Kutzer, E., und H. K. Hinaidy (1971): Die Parasiten der Wildschweine *(Sus scrofa)* Österreichs. Z. Parasitenkde *35*, 205 - 217.

Lepp, D. L., and K. S. Todd (1974): Life cycle of *Isospora canis nemeseri*, 1959 in the dog. J. Protozool. *21*, 199 - 206.

Long, P. L., and C. A. Speer (1977): Invasion of host cells by Coccidia. In: Taylor, A., and R. Muller: Parasite invasion. Symp. Br. Soc. Parasit. *15*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, Edinburgh, Melbourne.

Mahrt, I. L. (1967): Endogenous stages of the life cycle of *Isospora rivolta* in the dog. J. Protozool. *14*, 754 - 759.

McLaren, D. L. (1969): Observations on the fine structural changes associated with schizogony and gametogony in *Eimeria tenella*. Parasit. *59*, 563 - 574.

Mehlhorn, H. (1972 a): Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Entwicklungsstadien von *Eimeria maxima* (Sporozoa, Coccidia). I. Die Feinstruktur der Makrogameten. Z. Parasitenkde *39*, 161 - 182.

— (1972 b): Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Entwicklungsstadien von *Eimeria maxima* (Sporozoa, Coccidia). II. Die Feinstruktur der Mikrogameten. Z. Parasitenkde *40*, 151 - 163.

— (1972 c): Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Entwicklungsstadien von *Eimeria maxima* aus dem Haushuhn. III. Der Differenzierungsprozeß der Mikrogameten unter besonderer Berücksichtigung der Kernteilungen. Z. Parasitenkde *40*, 243 - 260.

— and M. B. Markus (1976): Electron microscopy of states of *Isospora felis* of the cat in the mesenteric lymph node of the mouse. Z. Parasitenkde *51*, 15 - 24.

— and A. O. Heydorn (1978): The Sarcosporidia. Life cycle and fine structure. Adv. Parasit. *16*, 43 - 93.

— and A. O. Heydorn (1979): Electron microscopical study on gamogony of *Sarcocystis suihominis* in human tissue cultures. Z. Parasitenkde *58*, 97 - 113.

Milde, K. (1979): Light and electron microscopic studies on Isosporan parasites (Sporozoa) in sparrows (*Passer domesticus* L.). Protistologica *15*, 607 - 627.

Moor, H., J. Kistler and M. Mueller (1976): Freezing in a propane jet. Experientia *32*, 805.

Nöller, W. (1921): Über einige wenig bekannte Darmprotozoen des Menschen und ihre nächste Verwandten. Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. *25*, 35 - 46.

O'Neill, P. A., and I. W. Parfitt (1976): Observations on *Isospora suis* infection in a minimal disease pig herd. Vet. Rec. *98*, 321 - 323.

Overdulve, J. P. (1970): The probable identity of *Toxoplasma* and *Isospora* and the role of the cat in the transmission of toxoplasmosis. Tijdschr. Diergeneeskde *95*, 149 - 155.

Pacheco, N. D., and R. Fayer (1977): Fine structure of *Sarcocystis cruzi schizonts*. J. Protozool. *24*, 382 - 388.

Paichuk, N. G. (1953): Materialy k faune koktsidu svinei v Kazaknstane (Contributions to the coccidial fauna of swine in Kazakhstan). Trudy Inst. Zool. Akad. Iauk Kazakhsk. SSR 1, 211 - 218.

Pellerdy, L. P. (1949): Studies on coccidia occurring in the domestic pig, with the description of a new *Eimeria* species (*Eimeria polita* sp. n.) of that host. Acta vet. hung. *1*, 101 - 109.

— (1974 a): Coccidia and coccidiosis. 2nd ed. Verlag Paul Parey, Berlin - Hamburg.

— (1974 b): Studies on the Coccidia of the domestic cat. *Isospora novocati* sp. n. Acta vet. hung. *24*, 121 - 131.

Pelster, B. (1973): Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Makrogameten von *Isospora felis* und *I. rivolta*. Z. Parasitenkde *41*, 29 - 46.

— und G. Piekarski (1971): Elektronenmikroskopische Analyse der Mikrogametenentwicklung bei *Toxoplasma gondii*. Z. Parasitenkde *37*, 267 - 277.

Piekarski, G., B. Pelster and H. M. Witte (1971): Endopolygenie bei *Toxoplasma gondii*. Z. Parasitenkde *36*, 122 - 130.

Reynolds, E. S. (1963): The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. cell. biol. *17*, 208 - 212.

Roberts, W. L., and D. M. Hammond (1970): Ultrastructural and cytological studies of sporozoites of four *Eimeria* species. J. Protozool. *17*, 76 - 86.

— D. M. Hammond and C. A. Speer (1970 a): Ultrastructural study of the intra- and extracellular sporozoites of *Eimeria callospermophili*. J. Parasit. *56*, 907 - 917.

— D. M. Hammond, L. C. Anderson and C. A. Speer (1970 b): Ultrastructural study of schizogony in *Eimeria callospermophili*. J. Protozool. *17*, 584 - 592.

— C. A. Speer and D. M. Hammond (1971): Penetration of *Eimeria larimerensis* sporozoites into cultured cells as observed with the light and electron microscopes. J. Parasit. *57*, 615 - 625.

— J. L. Mahrt and D. M. Hammond (1972): The fine structure of the sporozoites of *Isospora canis*. Z. Parasitenkde *40*, 183 - 194.

Rodriguez, H. S., C. R. Carretero, B. C. Martell, D. M. de Tena, M. T. Montanez and M. F. Gomez (1976): Ultrastructure de las fases instestinales

de *Isospora lacazei* Labbé 1893 en *Carduelis carduelis*. Rev. ibér. Parasit. *36*, 67 - 79.

Rommel, M. (1969): Untersuchungen über Infektionsverlauf sowie Ausbildung und Natur der Immunität an experimentell mit *Eimeria scabra* (Henry, 1931) und an *E. polita* (Pellerdy, 1949) infizierten Schweinen. Vet. med. Habil.-Schrift, FU Berlin.

— (1970 a): Untersuchungen an experimentell infizierten Schweinen über die Beeinflussung der Morphologie der Oozysten von *Eimeria scabra* (Henry, 1931) und *E. polita* (Pellerdy, 1949) durch Übervölkerung, Immunität und Alter des Wirts. Z. Parasitenkde *34*, 141 - 150.

— (1970 b): Verlauf der *Eimeria scabra*- und *E. polita*-Infektion in vollempfänglichen Ferkeln und Läuferschweinen. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. *83*, 181 - 186.

— (1978): Vergleichende Darstellung der Entwicklungsbiologie der Gattungen *Sacrocystis, Frenkelia, Isospora, Cystoisospora, Hammondia, Toxoplasma* und *Besnoitia*. Z. Parasitenkde *57*, 269 - 283.

— und V. Ipczynski (1967): Der Lebenszyklus des Schweinekokzids *Eimeria scabra* (Henry, 1931). Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. *80*, 65 - 70.

— A. O. Heydorn und F. Gruber (1972): Beiträge zum Entwicklungszyklus der Sarkosporidien. I. Die Sporozyste von *S. tenella* in den Fäzes der Katze. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. *85*, 101 - 105.

Ryley, J. F. (1973): Cytochemistry, physiology and biochemistry. In: Hammond, D. M., P. L. Long: The Coccidia, 145 - 181. University Park Press, Baltimore, Maryland.

Sampson, J. R., and D. M. Hammond (1972): Fine structural aspect of development of *Eimeria alabamensis* schizonts in the cell cultures J. Parasit. *58*, 311 - 322.

Sangster, L. T., L. R. Seibold and F. E. Mitchell (1976): Coccidial infection in suckling pigs. 19th Ann. Proc. Am. Ass. vet. lab. diagnostic., 51 - 55.

— B. P. Stuart, D. T. Williams and D. M. Bedell (1978): Coccidiosis associated with scours in baby pigs. Vet. med. small anim. clin. *73*, 1317 - 1319.

Schmidt, K., M. R. L. Johnston and W. E. Stebbens (1967): Fine structure of the schizont and merozoite of *Isospora* sp. (Sporozoa: Eimeriidae) parasitic in *Gehyra variegata* (Dumeril and Bibron, 1836) (Reptilia: Gekkonidae). J. Protozool. *14*, 602 - 608.

Scholtyseck, E. (1973): Die Deutung von Endodyogenie und Schizogenie bei Coccidien und anderen Sporozoen. Z. Parasitenkde *42*, 87 - 104.

— and A. Ratanavichien (1976): Endodyogenie in *Eimeria stiedai* Merozoiten. Trans. Am. microsc. Soc. *95*, 553 - 556.

— H. Mehlhorn and D. M. Hammond (1971): Fine structure of macrogametes and oocysts of Coccidia and related organismus. Z. Parasitenkde *37*, 1 - 43.

— H. Mehlhorn and D. M. Hammond (1972): Electron microscope studies of microgametogenesis in Coccidia and related groups. Z. Parasitenkde *38*, 95 - 131.

— L. Pellerdy, H. Mehlhorn und A. Haberkorn (1973): Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Mikrogametenentwicklung des Mäusecoccids *Eimeria falciformis*. Acta vet. hung. *23*, 61 - 73.

— B. Chobotar, I. Senaud and I. V. Ernst (1977): Fine structure of microgametogenesis of *Eimeria ferrisi*, Levine and Ivens 1965 in *mus musculus*. Z. Parasitenkde *51*, 229 - 240.

Senaud, I., and Z. Cerna (1978): Le cycle de development asexué de *Sarcocystis dispersa* (Cerna, Kolarova et Sulc, 1977) chez la souris: Étude au microscope èlectronique. Protistologica *14*, 155 - 176.

Shah, H. L. (1971): The life cycle of *Isospora felis* Wenyon 1923, a Coccidium of the cat. J. Protozool. *18*, 3 - 17.

Sheffield, H. G. (1970): Schizogony in *Toxoplasma gondii:* An electron microscope study. Proc. helminth. Soc. Wash. *37*, 237 - 247.

— M. L. Melton and F. A. Neva (1976): Development of *Hammondia hammondi* in cell cultures. Proc. helminth. Soc. Wash. *43*, 217 - 225.

Snigirevskaya, E. S. (1969): Changes of some ultrastructures during microgametogenesis in the rabbit Coccidia *Eimeria intestinalis* and *E. magna*. Tistologica *11*, 382 - 385.

Speer, C. A., and D. M. Hammond (1971): Development of *Eimeria ellipsoidalis* from cattle in cultured bovine cells. J. Parasit. *57*, 675 - 677.

— and D. W. Duszynski (1975): Fine structure of the oocyst walls of *Isospora serini* and *Isospora canaria* and excystation of *Isospora serini* from the canary, *Serinus canarius* L. J. Protozool. *22*, 476 - 481.

— and H. D. Danforth (1976): Fine structural aspects of microgametogenesis of *Eimeria magna* in rabbits and in kidney cell cultures. J. Protozool. *23*, 109 - 115.

— D. M. Hammond, I. L. Mahrt and W. L. Roberts (1973): Structure of the oocyst and sporocyst walls and excystation of sporozoites of *Isospora canis*. J. Parasit. *59*, 35 - 40.

Spurr, A. R. (1969): A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastruct. Res. *26*, 31 - 42.

Stotish, R. L., C. C. Wang and M. Meyenhofer (1978): Structure and composition of the oocyst wall of *Eimeria tenella*. J. Parasit. *64*, 1074 - 1081.

Stuart, B. P., D. S. Lindsey and J. V. Ernst (1978): Coccidiosis as a cause of scours in baby pigs. In: Proc. Sec. Int. Symp. Neonatal Diarrhea, Oct. 3 - 5, 1978, Univ. Saskatchewan (ed. S. D. Acres).

Svanbayev, S. K. (1969): Coccidian fauna of artiodactyla in Kazakhstan. Progr. Protozool. 3rd Int. Congr. Protozool. (Leningrad) 357.

Trayser, C. V., and K. S. Todd (1978): Life cycle of *Isospora burrowsi* n. sp. (Protozoa: Eimeriidae) from the dog *Canis familiaris*. Am. J. vet. Res. *39*, 95 - 98.

Umrath, W. (1974): Cooling bath for rapid freezing in electron microscopy. J. microsc. *101*, 103 - 105.

Vetterling, J. M. (1965): Coccidia (Protozoa: Eimeriidae) of Swine. J. Parasit. *51*, 897 - 912.

— (1966) Endogenous cycle of the swine Coccidium *Eimeria debliecki* Douwes, 1921. J. Protozool. *13*, 290 - 300.

— N. D. Pacheco and R. Fayer (1973): Fine structure of gametogony and oocyst formation in *Sarcocystis* sp. in cell culture. J. Protozool. *20*, 613 - 621.

Wheat, B. E., J. B. Jensen, J. V. Ernst and B. Chobotar (1976): Ultrastructure of macrogametogenesis of *Eimeria mivati*. Z. Parasitenkde *50*, 125 - 136.

Wiesenhütter, E. (1962): Ein Beitrag zur Kenntis der endogenen Entwicklung von *Eimeria spinosa* des Schweines. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. *75*, 172 - 173.

Witlock, D. R., W. B. Lusbaugh, H. D. Danforth and M. D. Ruff (1975 a): Scanning electron microscopy of the cecal mucosa in *Eimeria-tenella*-infected and uninfected chickens. Avian Dis. *19*, 293 - 304.

— H. D. Danforth and M. D. Ruff (1975 b): Scanning electron microscopy of *Eimeria tenella* infection and subsequent repair in chicken caeca. J. comp. path. *85*, 571 - 581.

— and M. D. Ruff (1977): Comparison of the intestinal surface damage caused by *Eimeria mivati*, *E. necatrix*, *E. maxima*, *E. brunetti*, and *E. acervulina* by scanning electron microscopy. J. Parasit. *63*, 193 - 199.

Anschrift der Verfasser:

Dr. F.-R. Matuschka,
Priv.-Doz. Dr. A. O. Heydorn,
Institut für Parasitologie
der Freien Universität Berlin
Königsweg 65,
D - 1000 Berlin 37

8.0 Anhang

Abkürzungen

Abbildungen 1 - 89

Verzeichnis der Abkürzungen

AM	= Polysaccharidgrana
B	= Basalapparat der Geißel
BE	= Becherzelle
C	= Conoid
CE	= Centriol
ER	= endoplosmatisches Retikulum
F	= Geißel, Flagellum
HC	= Wirtszelle
HCN	= Wirtszellkern
MI	= Mitochondrium
MN	= Mikronemen
MP	= Mikropore
MT	= Mikrotubuli
MV	= Mikrovillisaum der Darmepithelzellen

N = Nukleus
NF = Kernspindel
NM = Kernmembran
NP = Kernpore
NU = Nukleolus
OW = Oozystenwand
P = vorderer Polring
PE = Pellikula
PF = Perforatorium
PP = hinterer Polring
PV = parasitophore Vakuole
RB = refraktiler Körper
RH = Rhoptrien
RN = Restkern
SRS = Sporozystenrestkörper
SW = Sporozystenwand
WFB I = Hüllbildungskörper des ersten Typs
WFB II = Hüllbildungskörper des zweiten Typs

Für Unterstützung und kritische Durchsicht des Manuskriptes danken wir Herrn Prof Dr. Kurt Bronsch und Prof. Dr. Heinz Mehlhorn.

Die Arbeit wurde durch Stipendien der Studienstiftung des Deutschen Volkes und der Bundesanstalt für Materialprüfung sowie durch eine Sachbeihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Abbildungen

Abb. 1-14: Lichtmikroskopische Aufnahmen endogener Entwicklungsstadien von *I. suis*.

Abb. 1. Sporozoit in einer Epithelzelle, 24 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 2. Endodyogenie, 24 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 3. Endodyogenie, 24 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 4. Zwei Zoiten in einer Wirtszelle, 48 h p.i., Schnittpräparat, Heidenhain-Färbung. 1500 ×.

Abb. 5. Drei Zoiten, einer in Endodyogenie, 48 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 6. Junge merozoitenförmige Schizonten, 72 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 7. Vier Merozoiten in einer Wirtszelle, 72 h p.i., Schnittpräparat, Heidenhain-Färbung. 1500 ×.

Abb. 8. Merozoiten, 96 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 9. Abgerundeter, unreifer Schizont, 96 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 10. Merozoit und merozoitenförmiger junger Schizont, 96 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 11. Junger merozoitenförmiger Schizont, noch nicht abgerundet, 96 h p.i., Schnittpräparat, Heidenhain-Färbung. 1500 ×.

Abb. 12. Schizont mit großen Merozoiten, 120 h p.i., Schnittpräparat, Heidenhain-Färbung. 1500 ×.

Abb. 13. Schizont mit kleinen Merozoiten, 120 h p.i., Schnittpräparat, Heidenhain-Färbung. 1500 ×.

Abb. 14. Zygote und Mikrogamont, 120 h p.i., Schnittpräparat, H.E.-Färbung. 1500 ×.

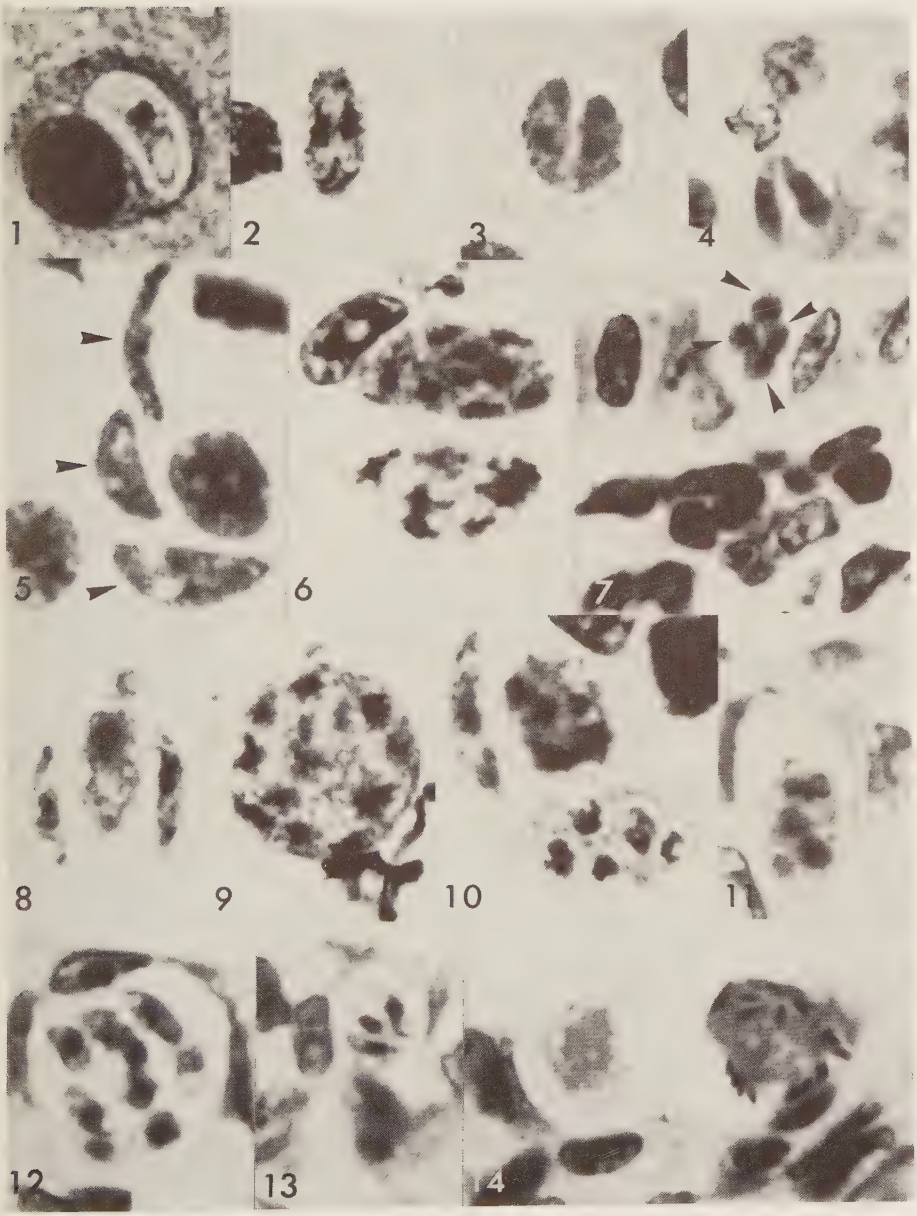

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14

Abb. 15-29: Lichtmikroskopische Aufnahmen endogener Entwicklungsstadien von *I. suis*.

Abb. 15. Merozoit, 120 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 16. Merozoit, 120 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 17. Reifer Schizont, 144 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 18. Verschiedene Merozoiten, 144 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 19. Makrogameten, 144 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 20. Zygote, 144 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 21. Unreifer Mikrogamont, 144 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 22. Reifer Mikrogamont mit Restkörper und zahlreichen Mikrogameten, 144 h p.i., Tupfpräparat, Giemsa-Färbung. 1500 ×.

Abb. 23. Mikrogamet, 144 h p.i., Nativpräparat. 1500 ×.

Abb. 24. Reifer Schizont, 144 h p.i., Nativpräparat, 1500 ×.

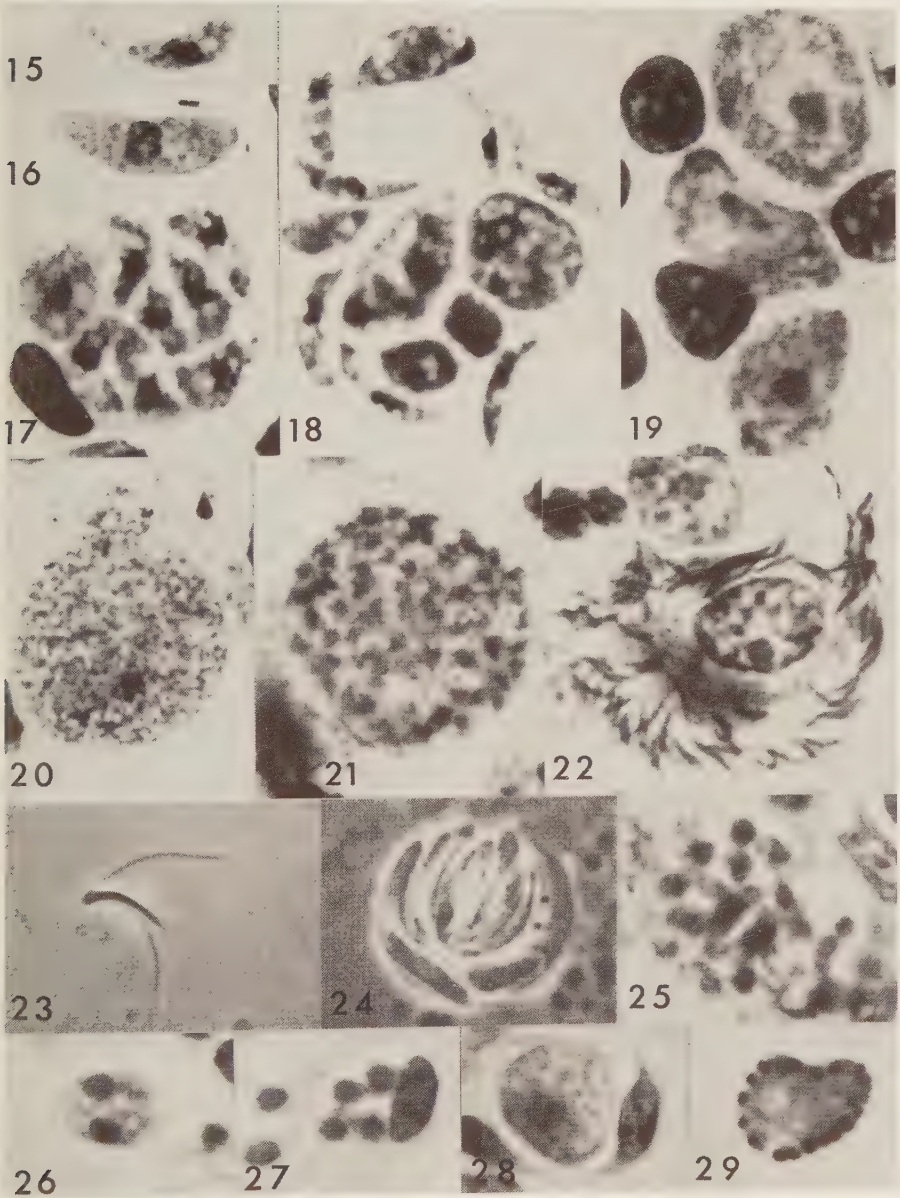
Abb. 25. Reifer Schizont, 144 h p.i., Schnittpräparat. H.E.-Färbung. 1500 ×.

Abb. 26. Endodyogenie, 168 h p.i., Schnittpräparat, H.E.-Färbung. 1500 ×.

Abb. 27. Vier Merozoiten proximal eines Wirtszellkernes, 168 h p.i., Schnittpräparat, Heidenhain-Färbung. 1500 ×.

Abb. 28. Zygote, 168 h p.i., Schnittpräparat, H.E.-Färbung. 1500 ×.

Abb. 29. Junger Mikrogamont, 168 h p.i., Schnittpräparat, H.E.-Färbung. 1500 ×.


15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29

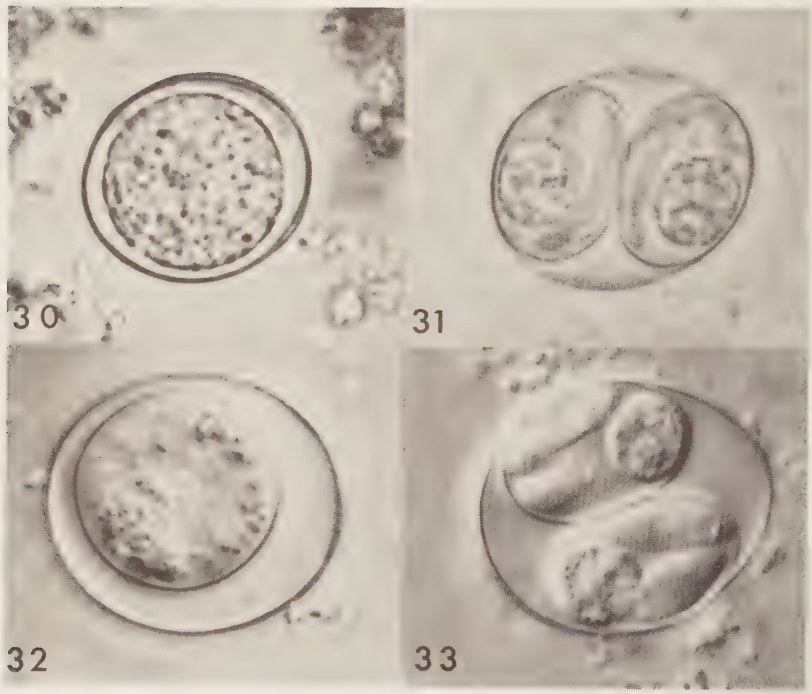


Abb. 30-33: Lichtmikroskopische Aufnahmen von *I. suis*-Oozysten aus dem Kot.

Abb. 30. Unsporulierte Oozyste, Nativpräparat. 1500 ×.

Abb. 31. Sporulierte Oozyste, Nativpräparat. 1500 ×.

Abb. 32. Unsporulierte Oozyste, Nativpräparat, DIK. 1500 ×.

Abb. 33. Sporulierte Oozyste, Nativpräparat, DIK. 1500 ×.

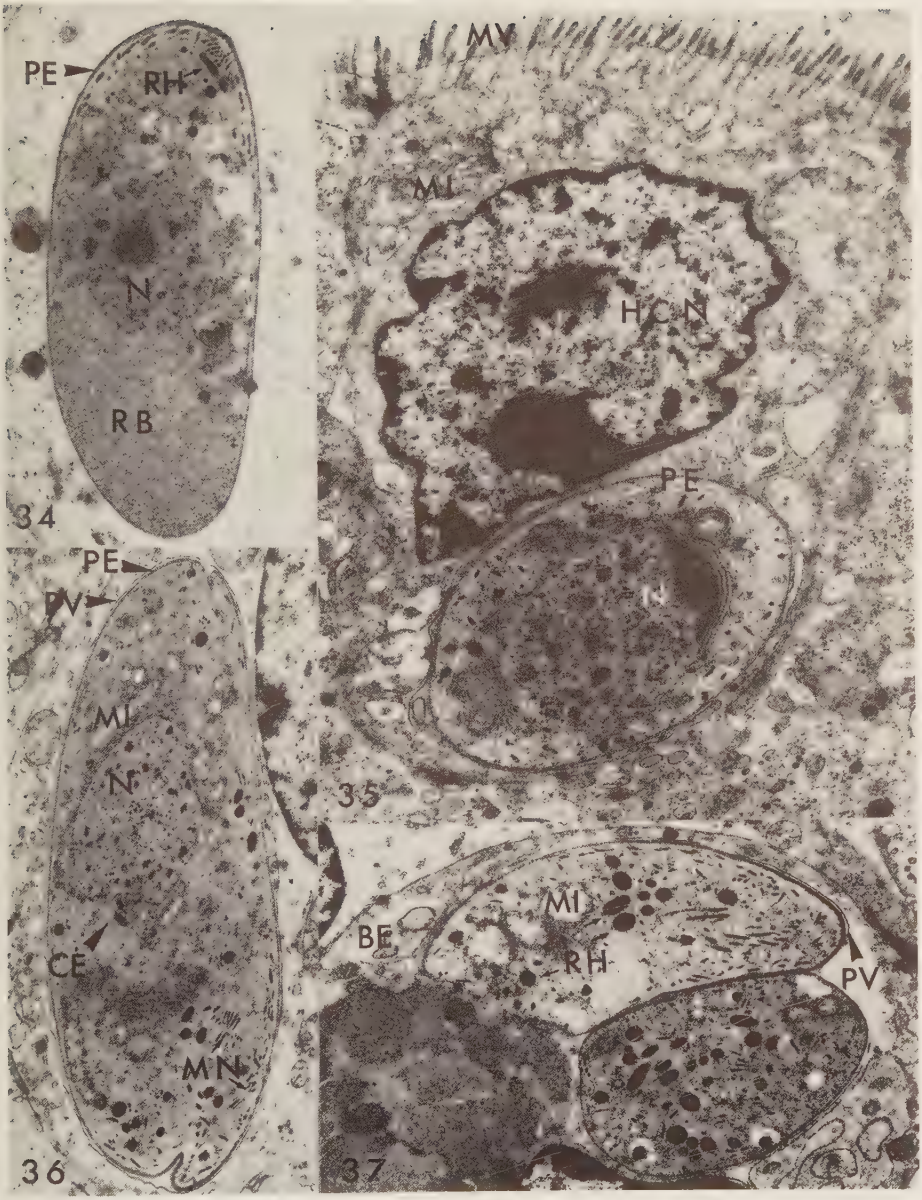


Abb. 34 - 37: Elektronenmikroskopische Aufnahmen endogener Entwicklungsstadien von *I. suis*.

Abb. 34. Sporozoit, 24 h p. i., mit refraktilem Körper (RB). 7800 ×.

Abb. 35. Epithelzelle des Dünndarms mit einem Parasiten, 24 h p. i., 5200 ×.

Abb. 36. Parasit in einer parasitophoren Vakuole mit beginnender Kernteilung, 24 h p. i. 6500 ×.

Abb. 37. Eine mit zwei Parasiten befallene Becherzelle, 48 h p. i. 7200 ×.

Abb. 38 - 43: Elektronenmikroskopische Aufnahmen endogener Entwicklungsstadien von *I. suis*.

Abb. 38. Frühes Endodyogeniestadium, 48 h p. i., mit neugebildetem Conoid (C). 8250 ×.

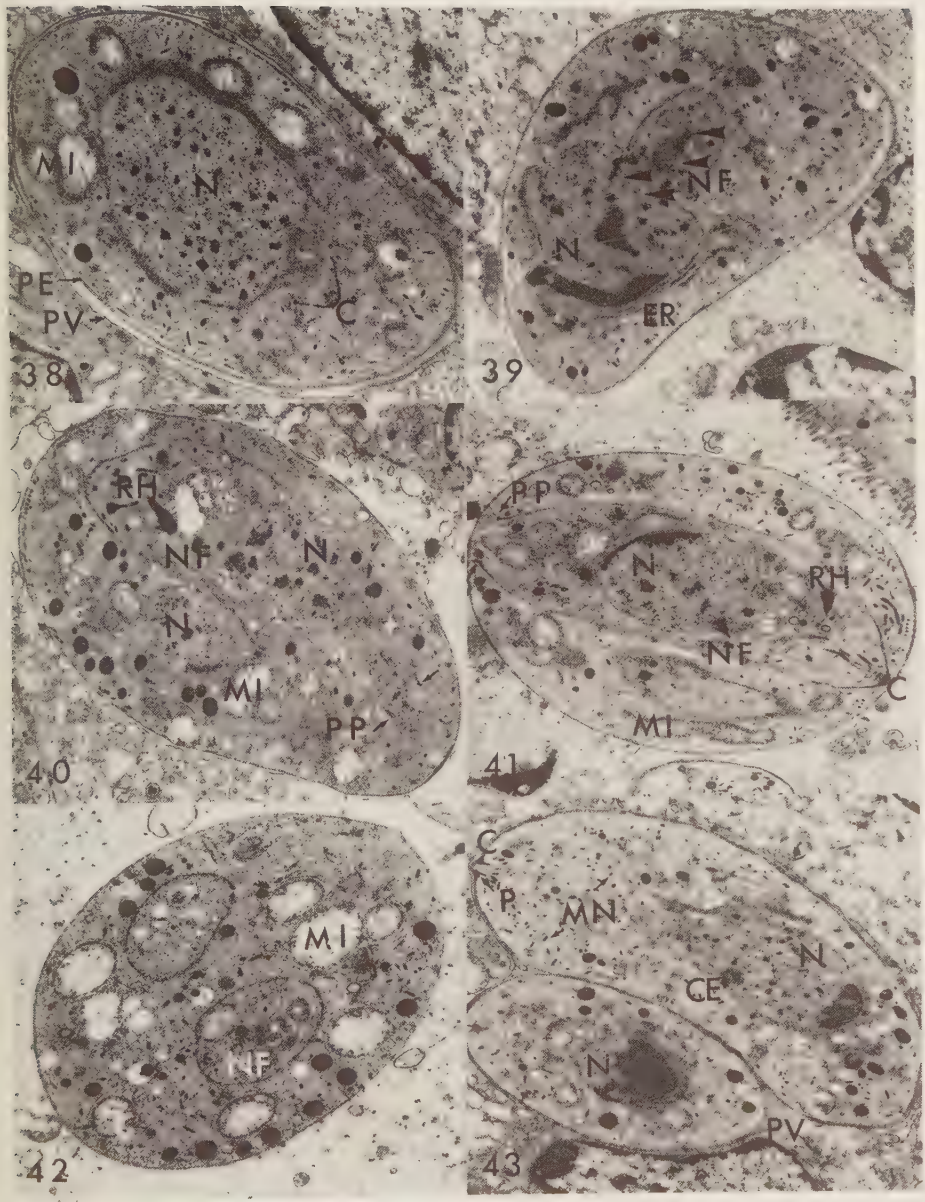
Abb. 39. Frühes Endodyogeniestadium mit Kernspindeln (NF), 48 h p. i. 7500 ×.

Abb. 40. Fortgeschrittenes Endodyogeniestadium am 3. Tag p. i. 6750 ×.

Abb. 41. Endodyogeniestadium mit Längsschnitt durch einen der beiden neugebildeten Merozoiten am 4. Tag p. i. 7500 ×.

Abb. 42. Endodyogeniestadium am 4. Tag p. i. Die neugebildeten Merozoiten sind quergeschnitten. 8250 ×.

Abb. 43. Längsschnitt durch einen von zwei in einer parasitophoren Vakuole liegenden Merozoiten, 48 h p. i., mit beginnender Kernteilung. 6375 ×.


MI
N
PE
PV
C
38
NF
N
ER
39
RH
NF
N
N
MI
PP
40
PP
N
RH
NF
C
MI
41
MI
NF
42
C
P
MN
N
CE
N
PV
43

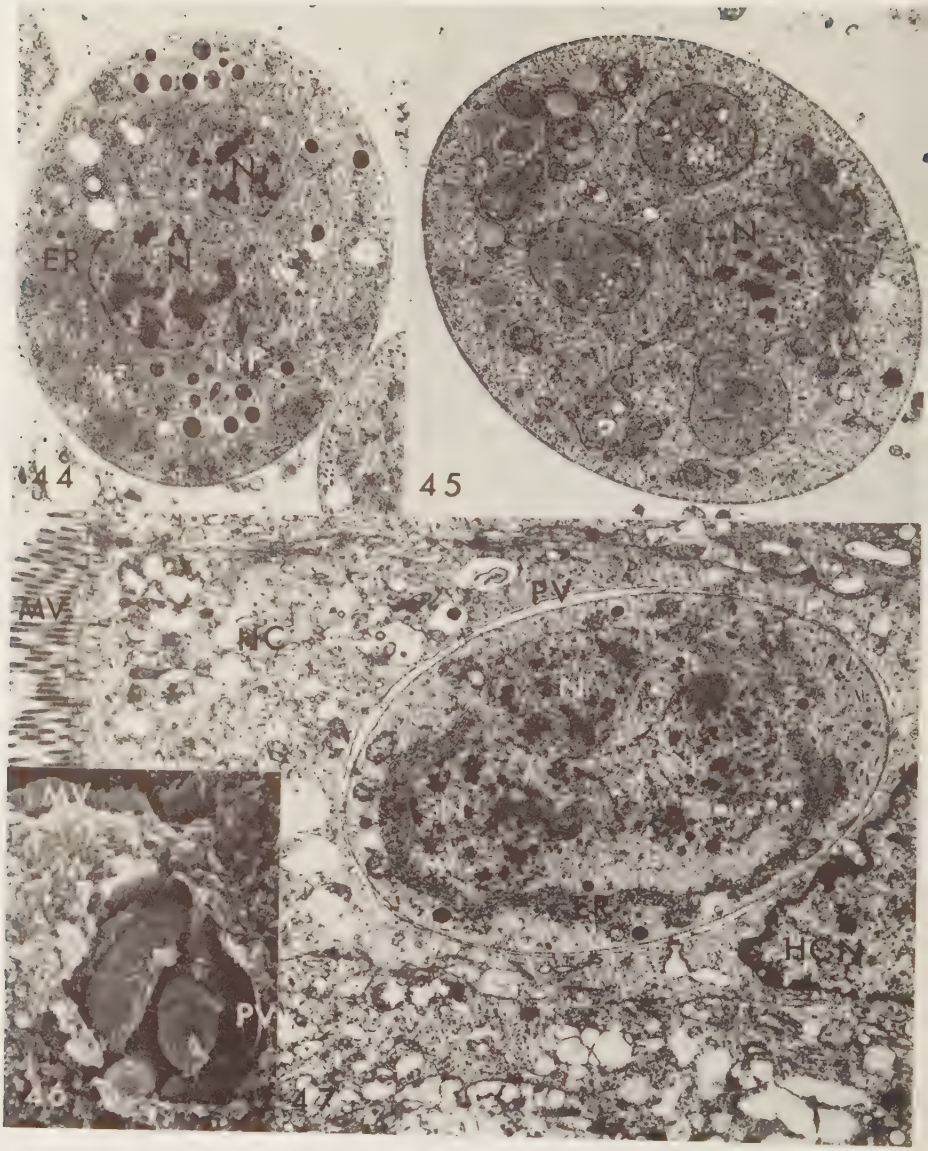


Abb. 44 - 47: Elektronenmikroskopische Aufnahmen endogener Entwicklungsstadien von *I. suis*.

Abb. 44. Querschnitt durch einen jungen Schizonten mit Kernspindel (NF) am 5. Tag p.i. 6750 ×.

Abb. 45. Querschnitt durch einen unreifen Schizonten (kleiner Typ). 8250 ×.

Abb. 46. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Epithelzelle mit vier Merozoiten, 5. Tag p.i. 3225 ×.

Abb. 47. Langsschnitt durch eine Epithelzelle mit einem jungen Schizonten, 5. Tag p.i. 4575 ×.

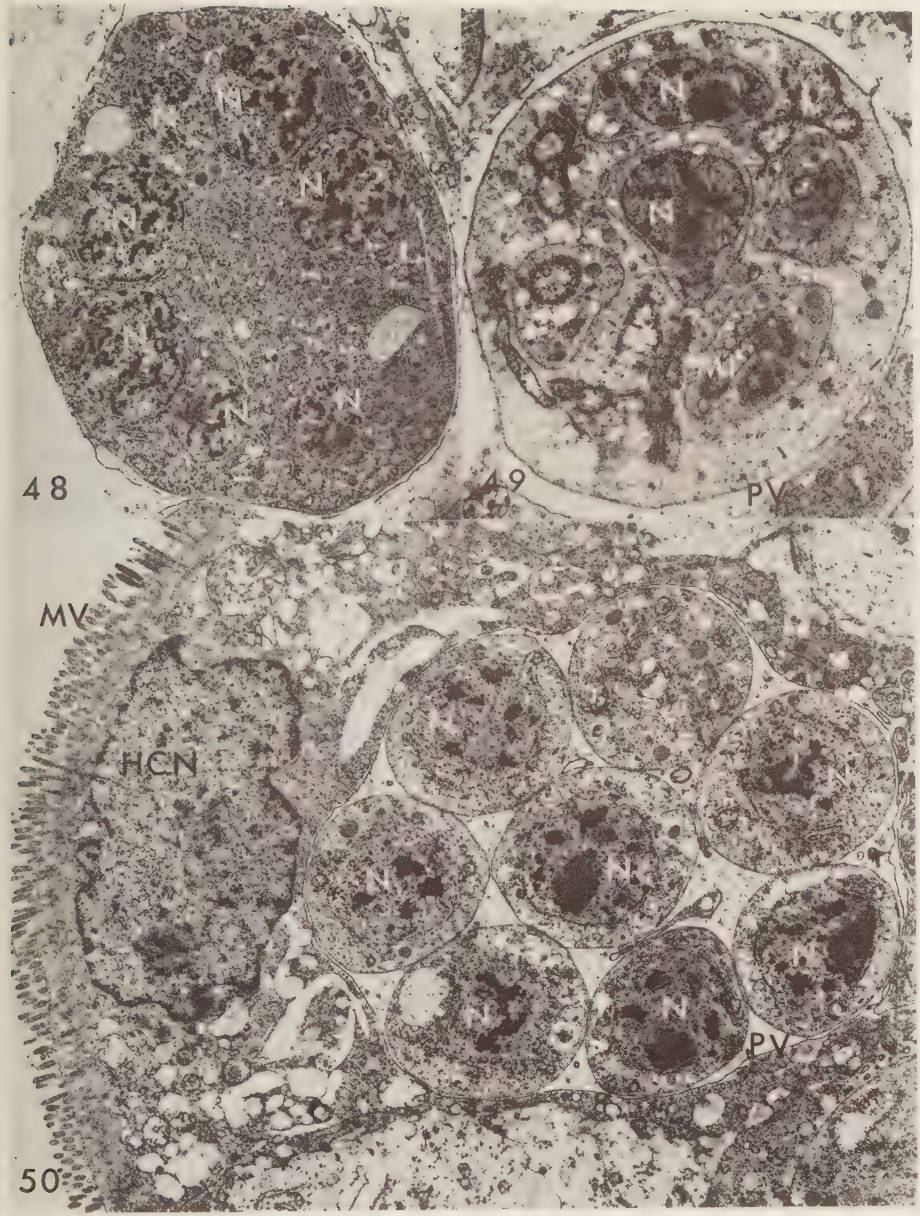


Abb. 48 - 50: Elektronenmikroskopische Aufnahmen endogener Entwicklungsstadien von *I. suis*.

Abb. 48. Querschnitt durch einen Schizonten am 5. Tag p.i. 5700 ×.

Abb. 49. Querschnitt durch einen Schizonten und seinen neugebildeten Merozoiten. 5. Tag p.i. 6750 ×.

Abb. 50. Längsschnitt durch eine mit einem reifen Schizonten (großer Typ) befallene Epithelzelle. Die Merozoiten sind quer geschnitten, 5. Tag p.i. 5850 ×.

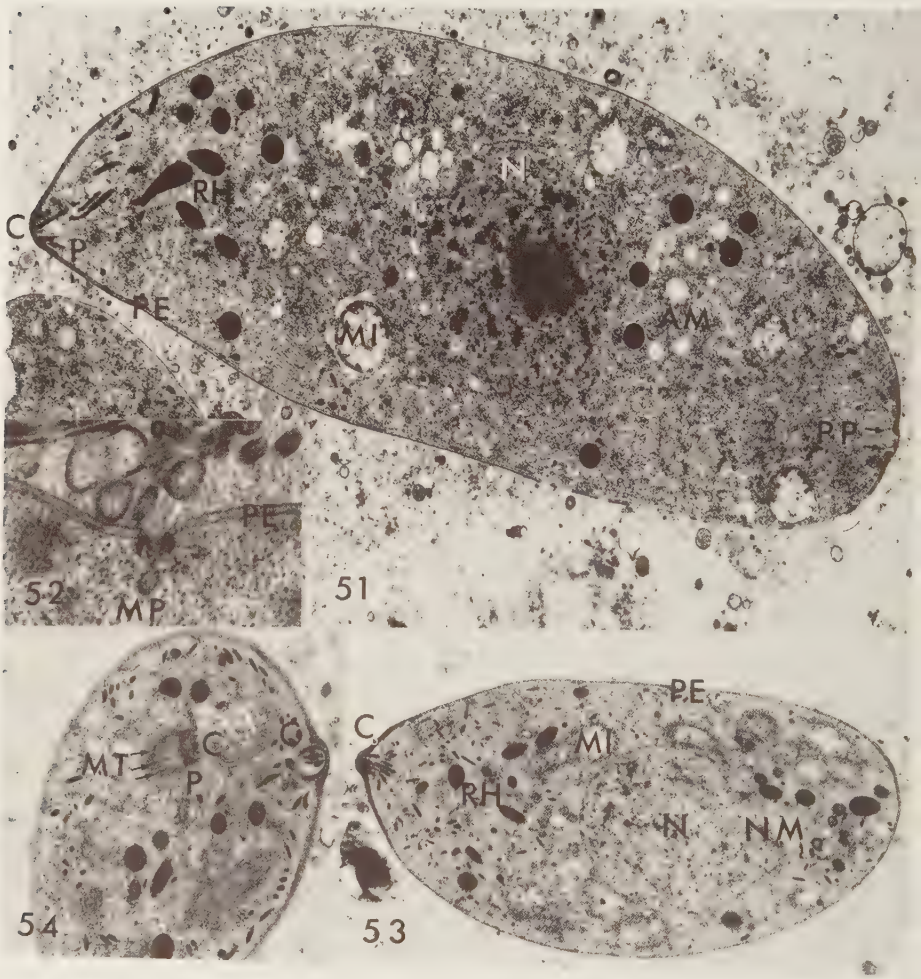


Abb. 51-54: Elektronenmikroskopische Aufnahmen endogener Entwicklungsstadien von *I. suis*.

Abb. 51. Längsschnitt durch einen Merozoiten (große Form) am 5. Tag p.i. 8775 ×.

Abb. 52. Mikropore (MP) in der Pellikula eines Merozoiten. 36750 ×.

Abb. 53. Längsschnitt durch einen Merozoiten (kleine Form) am 5. Tag p.i. 8250 ×.

Abb. 54. Tangentialschnitt durch den apikalen Teil eines Merozoiten bzw. dessen Conoid. Im Zytoplasma ist das Conoid eines weiteren Merozoiten angeschnitten, 5. Tag p.i. 15525 ×.

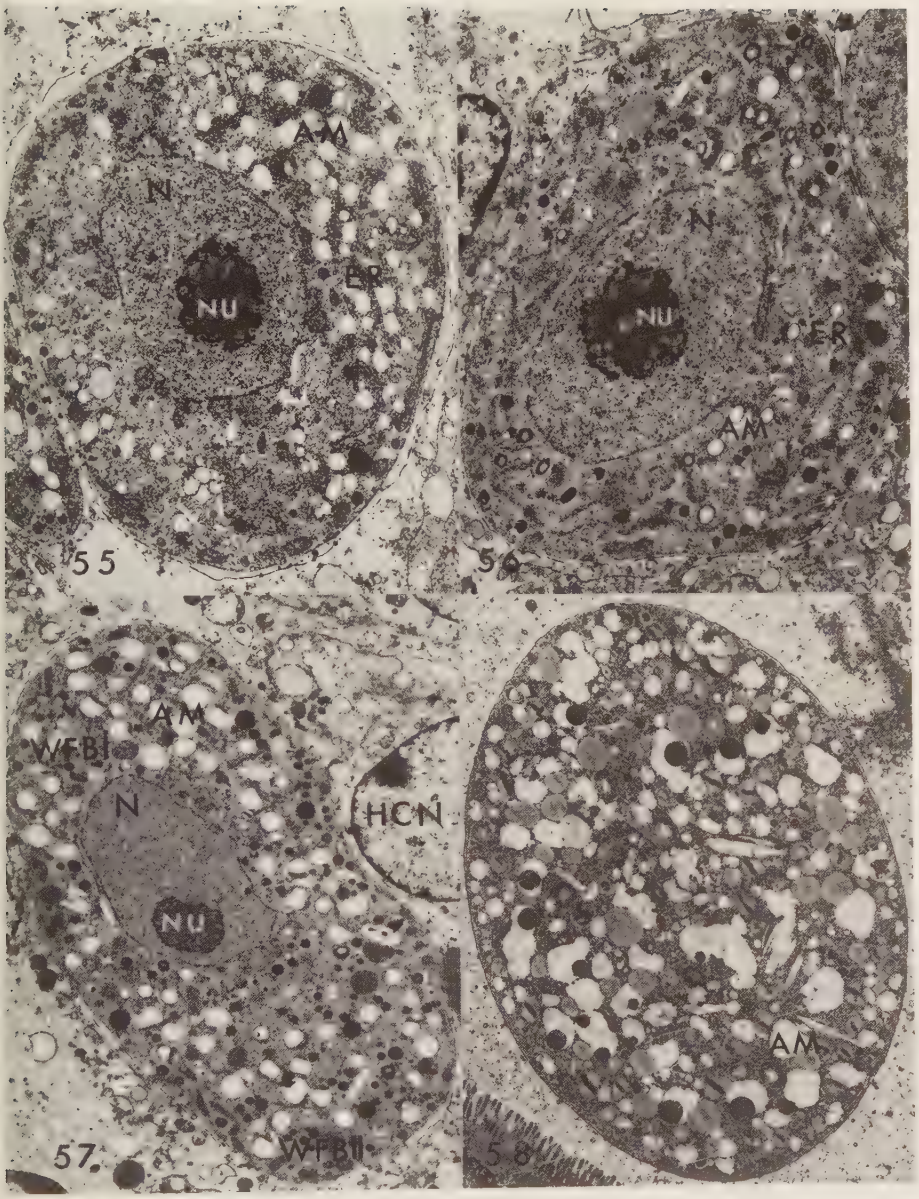


Abb. 55 - 58: Elektronenmikroskopische Aufnahmen endogener Entwicklungsstadien von *I. suis*.

Abb. 55. Querschnitt durch einen jungen abgerundeten Makrogamonten, 5. Tag p.i. 5475 ×.

Abb. 56. Querschnitt durch einen jungen Makrogamonten, 6. Tag p.i. 6375 ×.

Abb. 57. Querschnitt durch einen Makrogameten mit vielen Polysaccharidgrana (AM), 6. Tag p.i. 5025 ×.

Abb. 58. Tangentialschnitt durch einen Makrogameten, 5. Tag p.i. 3825 ×.

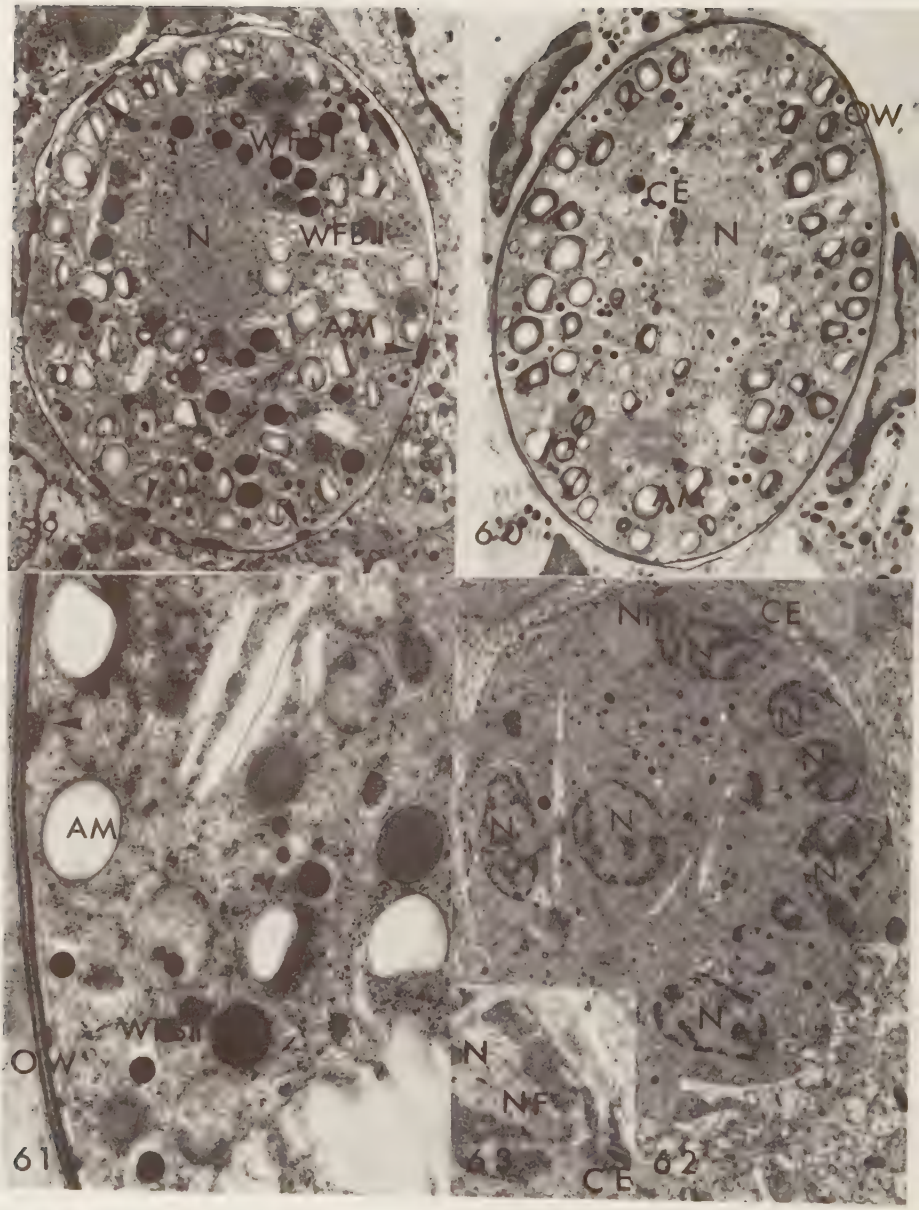


Abb. 59 - 63: Elektronenmikroskopische Aufnahmen endogener Entwicklungsstadien von *I. suis*.

Abb. 59. Querschnitt durch eine Zygote mit beginnender Oozystenwandbildung, 6. Tag p. i. 4200 ×.

Abb. 60. Querschnitt durch eine junge Oozyste mit beginnender Sporulation, 6. Tag p. i. 5475 ×.

Abb. 61. Ausschnitt aus einer Oozystenwand mit Polysaccharidgrana (AM) und Hüllbildungskörpern (WFB), 6. Tag p. i. 16 500 ×.

Abb. 62. Querschnitt durch einen jungen Mikrogamonten, 6. Tag p. i. 4500 ×.

Abb. 63. Ausschnitt aus einem Mikrogameten. Kern mit Kernspindel (NF), 6. Tag p. i. 12 225 ×.

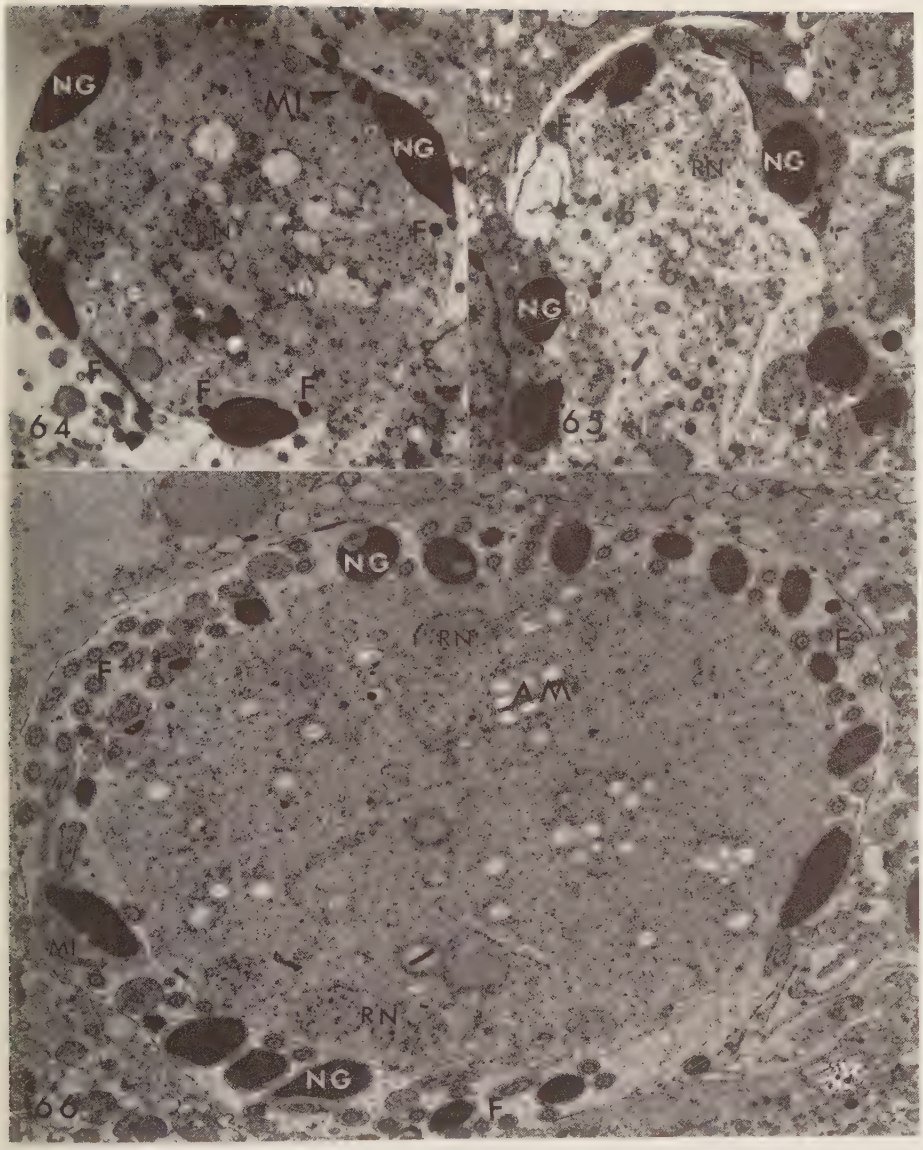


Abb. 64 - 66: Elektronenmikroskopische Aufnahmen endogener Entwicklungsstadien von *I. suis*. Alle Stadien 6. Tag p. i.

Abb. 64. Ausschnitt eines Mikrogamonten. Die Kerne haben sich peripher angeordnet und das elektronendichte Karyoplasma ist von dem elektronenlichten Restkern abgetrennt. Im Zytoplasma ist die Ausbildung der Geißeln schon weit fortgeschritten. 7500 ×.

Abb. 65. Ausschnitt eines Mikrogamonten, bei dem sich die Kerne abzuschnüren beginnen. 6675 ×.

Abb. 66. Querschnitt durch einen reifen Mikrogamonten. Der Abschnürvorgang ist abgeschlossen. Die Mikrogameten liegen peripher um den Mikrogamonten-Restkörper in der parasitophoren Vakuole. 8475 ×.

Abb. 67 - 75: Elektronenmikroskopische Aufnahmen endogener Entwicklungsstadien von *I. suis*. Alle Stadien 6. Tag p. i.

Abb. 67. Ausschnitt eines elektronendichten Mikrogamontenkernes mit Mitochondrium und Geißelquerschnitt. 18750 ×.

Abb. 68. Schnitt durch einen Mikrogamontenkern. Die Abschnürung wird durch die Ausstülpung des Kernes hervorgerufen. 25050 ×.

Abb. 69. Die Mikrogametenbildung ist schon weit fortgeschritten. Ein Mitochondrium vom tubulären Typ wandert mit in die Ausstülpung. An der Abschnürung bildet sich ein osmiophiler Ring. 21000 ×.

Abb. 70. Schrägschnitt durch einen Mikrogameten, an dem die Geißelansätze angeschnitten sind. 19500 ×.

Abb. 71. Querschnitt durch die Geißel eines Mikrogameten mit 9x2+2 Struktur. 32250 ×.

Abb. 72 - 75. Quer- und Längsschnitte durch verschiedene Bereiche von Mikrogameten.
Abb. 72, 18225 ×.
Abb. 73, 22500 ×.
Abb. 74, 10500 ×.
Abb. 75, 21750 ×.

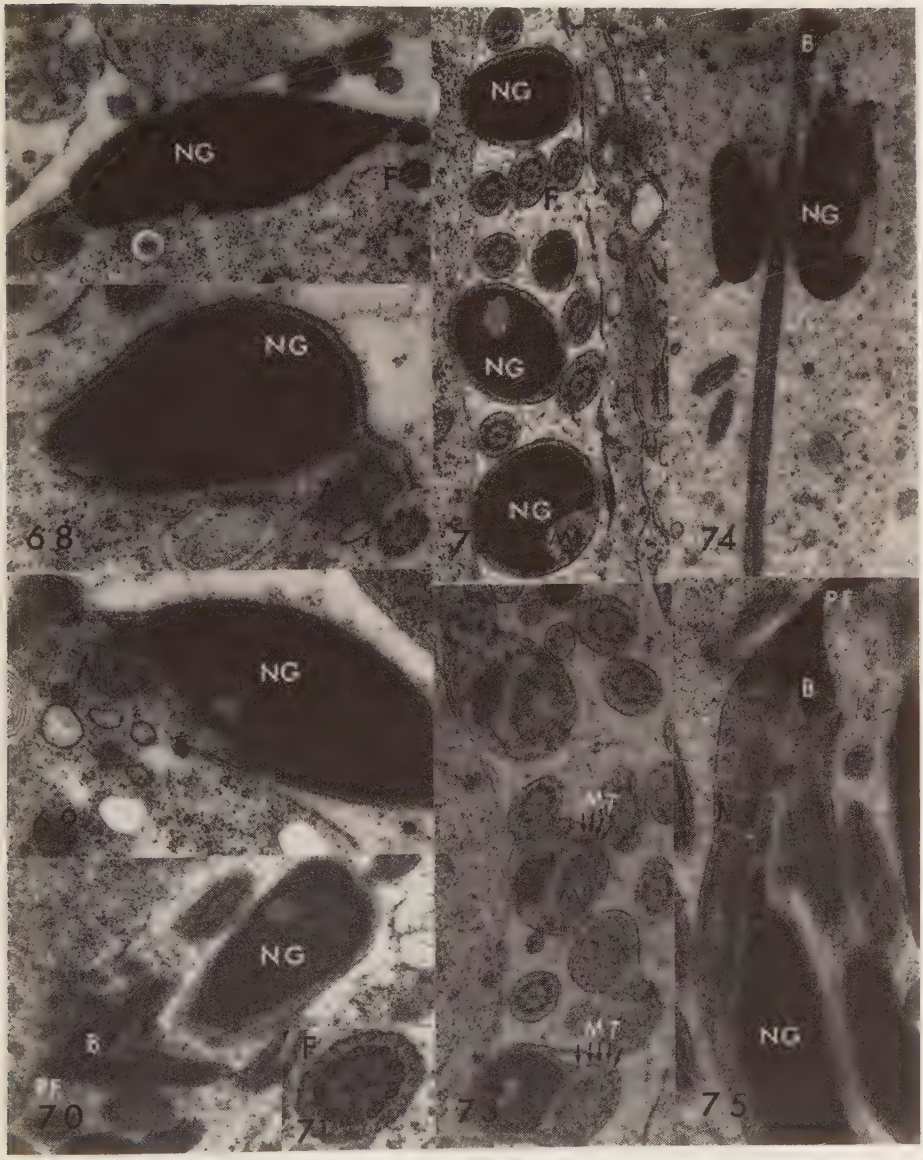

NG
F
68
NG
NG
NG
7
B
NG
74
NG
B
PF
70
NG
F
71
MT
MT
73
PF
B
NG
75

Abb. 76 - 83: Elektronenmikroskopische Aufnahmen von *I. suis*.

Abb. 76. Ausschnitt aus einer Sporozyste nach Gefrierätzung. 15 375 ×.

Abb. 77. Ausschnitt aus einer Sporozystenwand nach Gefrierätzung, vgl. auch Abb. 81. 7875 ×.

Abb. 78. Schnitt durch einen Sporozoiten. 15 150 ×.

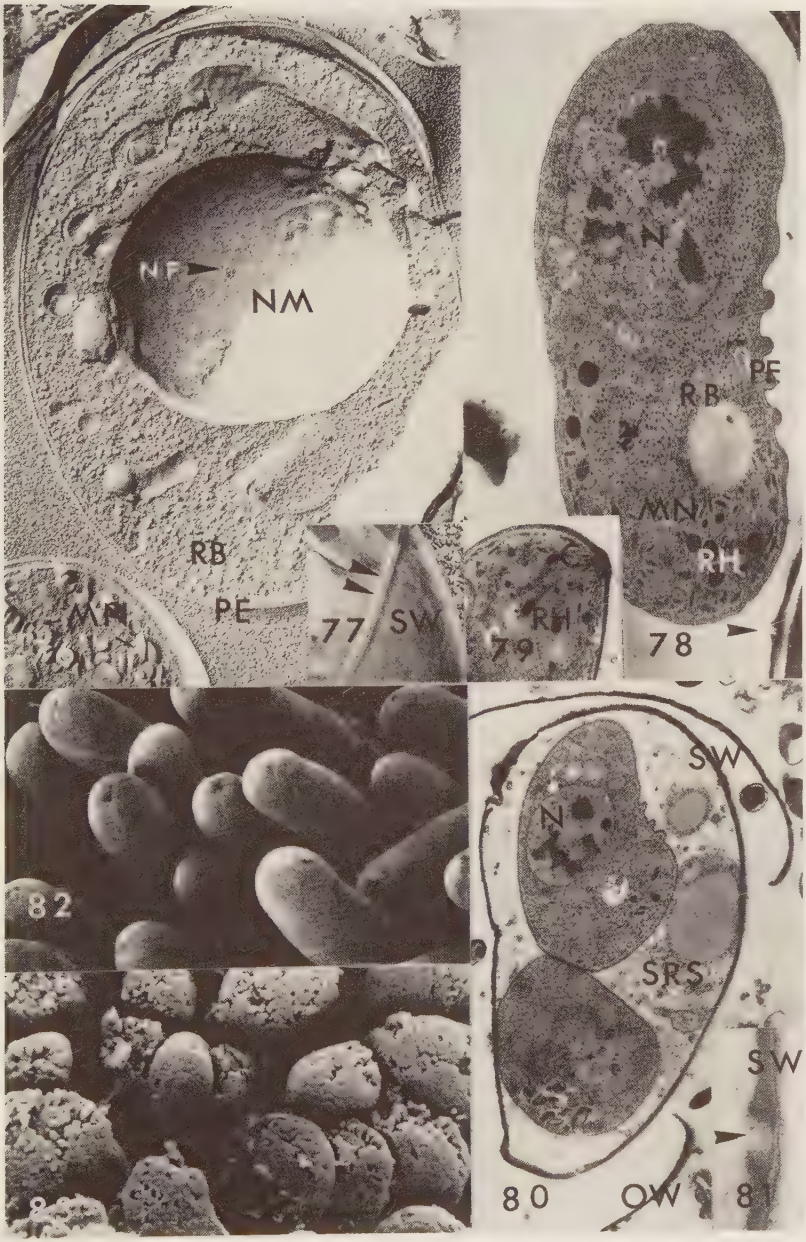
Abb. 79: Schnitt durch den apikalen Teil eines Sporozoiten mit Conoid (C) und Rhoptrien (RH). 7275 ×.

Abb. 80. Schnitt durch eine Oozyste mit Oozystenwand, Sporozystenwand, zwei Sporozoiten und Sporozystenrestkörper. 7500 ×.

Abb. 81. Schnitt durch die Nahtstelle einer Sporozystenwand, vgl. auch Abb. 77. 52 500 ×.

Abb. 82. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Dünndarmabschnittes von einem nichtinfizierten Ferkel. 112 ×.

Abb. 83. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Dünndarmabschnittes von einem experimentell mit *I. suis* infizierten Ferkel am 5. Tag p.i. 112 ×.


NF
NM
RB
PE
MN
77
SW
79
RH
N
PE
RB
MN
RH
78
82
SW
N
SRS
SW
80
OW
81

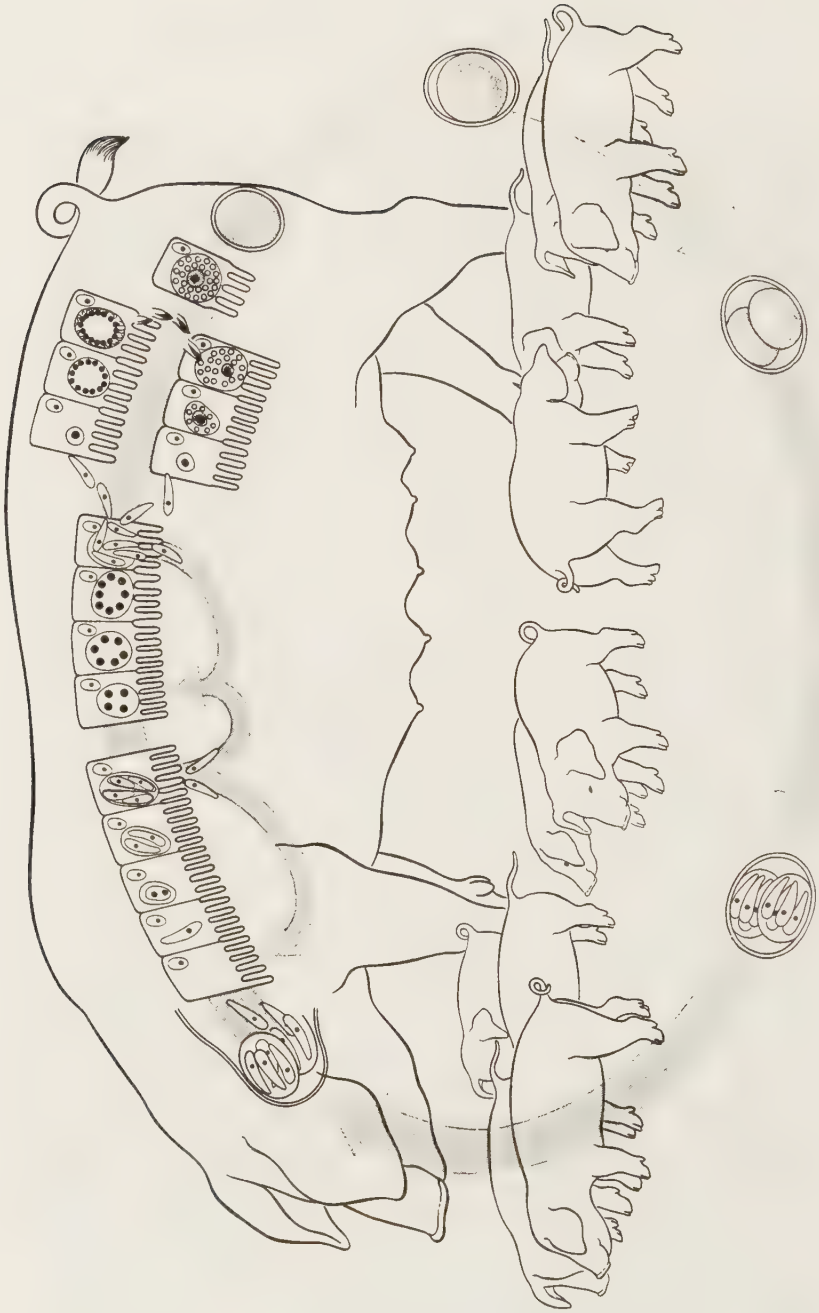
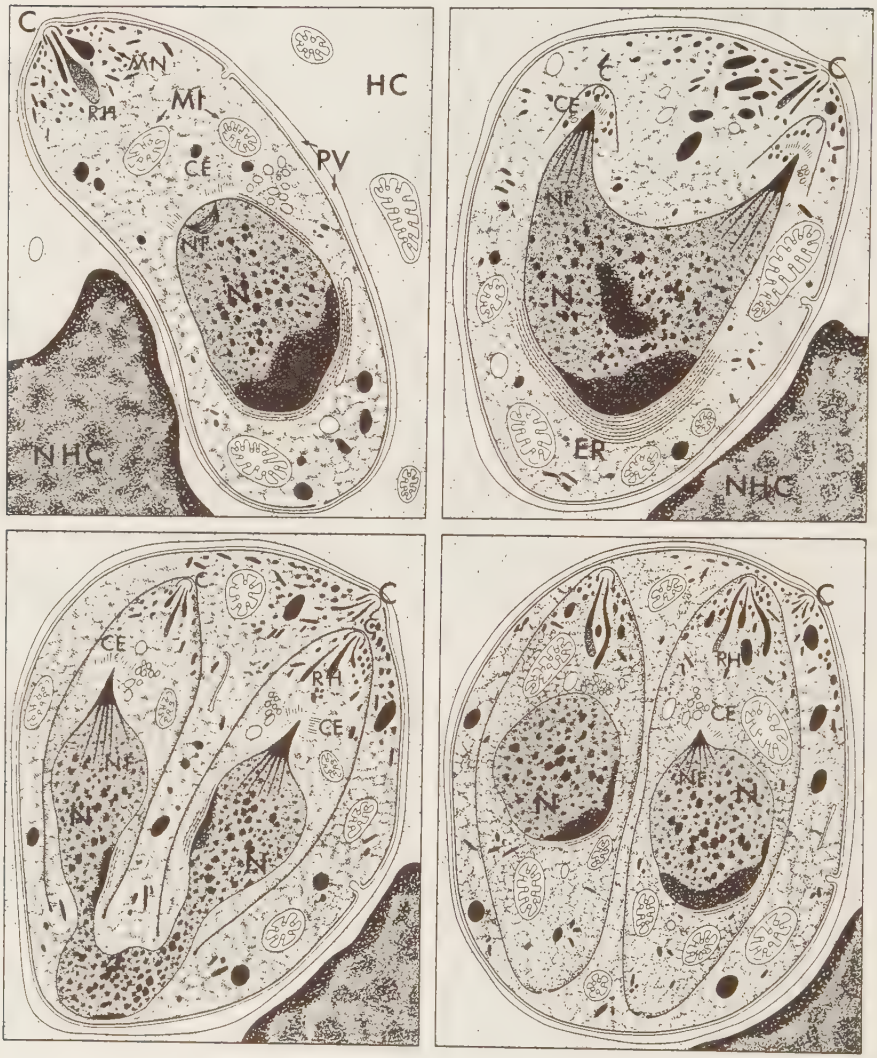


Abb. 84. Schematische Darstellung des Entwicklungsganges von *I. suis* anhand der vorliegenden licht- und elektronenoptischen Befunde.

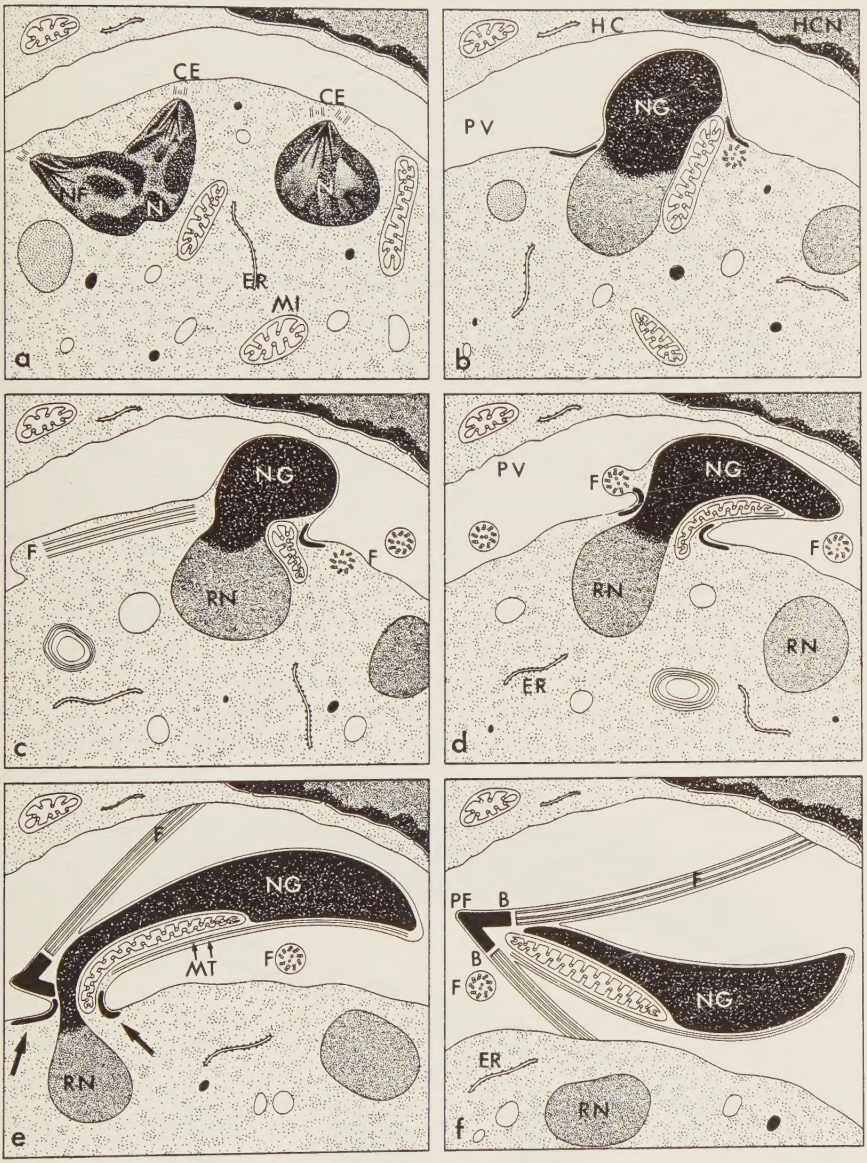
85

Abb. 85. Schematische Darstellung der Zoitenformen von *I. suis*.
a) Sporozoit; b) kleiner Merozoitentyp aus dem Dünndarm; c) großer Merozoitentyp aus dem Dünndarm.



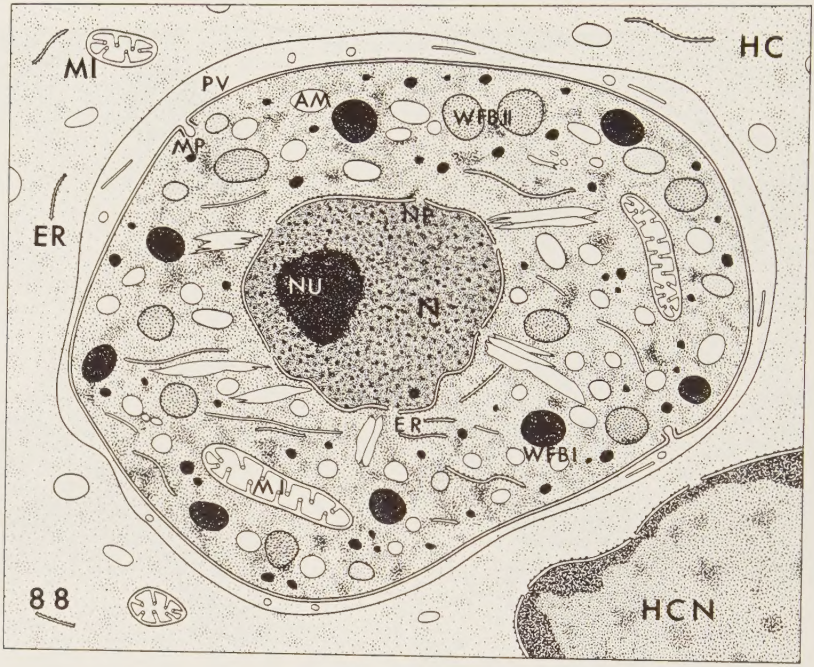
86

Abb. 86. Schematische Darstellung der Endodyogenie von *I. suis*.



87

Abb. 87. Schematische Darstellung der Mikrogametenentwicklung von *I. suis*.



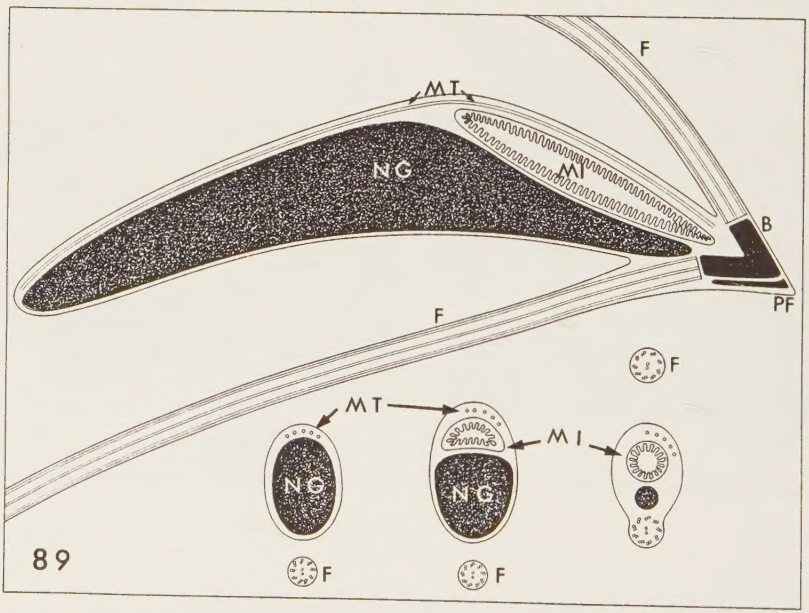


Abb. 88. Schematische Darstellung eines Makrogameten von *I. suis*.

Abb. 89. Schematische Darstellung eines Mikrogameten von *I. suis* in verschiedenen Querschnitten und im Längsschnitt.

Lebenslauf

Am 19. Oktober 1948 wurde ich als Sohn des Oberstudienrats Franz Matuschka und der Buchhändlerin Maria Matuschka, geborene Ziegelmüller, in Heidelberg geboren.

Nach der Grundschulzeit von 1955 bis 1959 besuchte ich das Humanistische Schönborn-Gymnasium in Bruchsal, an dem ich im Juni 1968 die Reifeprüfung ablegte.

Ein sechssemestriges Studium an der Pädagogischen Hochschule Freiburg schloß ich am 31. Juli 1971 mit dem Ersten Staatsexamen in den Fächern Biologie und Chemie ab.

Ab Wintersemester 1971/72 studierte ich an den Universitäten Freiburg, Konstanz und Berlin Biologie. Im Anschluß an die mündliche Diplomprüfung am 30. Oktober 1975 fertigte ich von Januar 1976 bis April 1977 meine Diplomarbeit im Institut für Allgemeine Zoologie der Freien Universität Berlin in Zusammenarbeit mit dem Robert-Koch-Institut des Bundesgesundheitsamtes, Fachgebiet Medizinische Parasitologie, an.

Mit dem Wintersemester 1977/78 begann ich meine Dissertation im Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin und im Institut für Allgemeine Zoologie der Freien Universität Berlin.